



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

TESIS TITULADA:

**“EVALUACIÓN DEL POTENCIAL FITORREMEDIAADOR DE
Phaseolus vulgaris, *Triticum vulgare* y *Helianthus annuus* PARA
METALES PESADOS EN UN CULTIVO HIDROPÓNICO A NIVEL
DE INVERNADERO”.**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

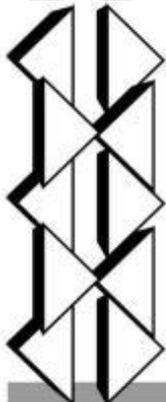
PRESENTA:

CÁNDIDO ALARCÓN ESTRELLA

ÁREA ESPECÍFICA: CIENCIAS AMBIENTALES

**LABORATORIO DE CONTAMINACIÓN Y
FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS**

**DIRECTORA DE TESIS: ESTHER MATIANA
GARCÍA AMADOR**



**FES
ZARAGOZA**

México, D.F.

ABRIL DE 2013

FINANCIADO POR PROYECTO PAPIME: PE 202311

“Todos somos científicos cuando somos niños, pero al crecer, solo algunos conservan un poco de esa curiosidad que es la madre de la ciencia”.

Juan Aguilar M.

“El hombre encuentra a Dios detrás de cada puerta que la ciencia logra abrir”.

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a Dios, por permitirme mi vida, por colmarme de amor y alegría, por todas las experiencias que he tenido y las que me faltan por vivir, gracias, porque hoy me concede llegar a este momento, acompañada de mis seres queridos, gracias Dios mío, por tu amor y tu misericordia para conmigo.

El agradecimiento mas especial que puedo ofrecer, es para mis padres, que son los cimientos de mi vida, son las personas que me han llenado de amor desde el principio de mis días, quienes han formado lo mejor de mi persona, quienes han estado ahí siempre, aunque yo falle, siempre están aquí, brindándome su apoyo incondicional, gracias, gracias mami, gracias papi, gracias por sus consejos, por su amor, su confianza, por su esfuerzo y dedicación, por su duro trabajo diario, por creer en mí, gracias porque desde pequeña me han enseñado a esforzarme, a ser perseverante, gracias porque su visión de mí ha sido amplia, y me han brindado todas las oportunidades para desarrollarme, gracias a Dios y a ustedes, hoy llego a esta meta con gran emoción, gracias papi y mami, los amo.

Un agradecimiento muy importante, es para mi directora de tesis, la Dra. Esther Matiana García Amador, por su disposición, su atención y su paciencia en la elaboración de mi trabajo de tesis, desde su inicio, en cada revisión y corrección, y hasta su culminación, le agradezco su apoyo para realizar este proyecto y otras actividades que me permitieron enriquecer mi trabajo y mi experiencia en el campo de la investigación; gracias profesora por su enseñanza y su calidad humana, ha sido un placer trabajar con usted, me quedo con la mejor experiencia.

Agradezco también a la Dra. Esther Matiana García Amador, Biól. Leticia López Vicente, Biól. Maricela Arteaga Mejía, Dra. María Socorro Orozco Almanza y Biól. Aida Zapata Cruz, por haber tomado parte como mis sinodales, y cuyas revisiones ayudaron a enriquecer y mejorar mi trabajo de tesis.

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México que a través de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, me brindó excelente profesional de calidad, y hoy me ha formado como una Bióloga de calidad, orgullosamente zaragozana.

DEDICATORIA

Dedico esta, mi tesis de licenciatura, hasta ahora el trabajo de investigación más importante de mi vida, a las siguientes personas:

A mi abuelita *Ma. Del Socorro Reyes Regalado*, quien fue una mujer de Dios, única, valiente, fuerte, cuya sabiduría y experiencias dejaron una huella importante en mi vida, y la recuerdo con mucho cariño.

A mis hermanas *Dulce* y *Marina*, y a mis hermanos, *Misael*, *Ezequiel* e *Isaac*, los quiero mucho, ustedes son únicos, son... geniales, yo espero poder ser un buen ejemplo, saben que siempre pueden contar conmigo.

A mi mamá *Estrella Alarcón Reyes* y mi papá *Constantino Cándido Plata*, son los mejores padres del mundo, les prometo dar lo mejor de mí, y espero hacerlos sentir tan orgullosos que compense tan solo un poco de todo lo que ustedes hacen por mí.

Los amo familia, son el tesoro más grande que Dios me ha dado, su amor y su apoyo son fundamentales en mi vida, son los mejores.

A mi tío *Simeí*, que es una persona de quien admiro su honestidad, su solidaridad, su respeto y sobre todo, su calidad humana.

A mi amado *Luis Rey Felipe Martínez Gutiérrez*, que ha representado una parte muy importante de mi vida en los últimos años, que me ha mostrado su amor y apoyo, que ha compartido momentos tan importantes y especiales conmigo y que hoy forma parte de mi corazón, Luis, mi vida, tú eres esa persona especial para mí, agradezco a Dios que te trajera a mi lado; gracias por todo amor, te amo.

A mis amigos, con quienes he trabajado, he compartido, me he divertido, y he aprendido, *Lore*, *Lupis*, *Kori*, *Orlando*, ustedes me han dejado experiencias únicas y enseñanzas para toda la vida, los quiero.

ÍNDICE DE TEMAS

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1. Fuentes de contaminación por metales pesados en México	5
3.2. La minería y la contaminación por metales pesados en México	5
3.3. Clasificación de metales	7
3.4. Funciones biológicas y toxicidad de los metales pesados	8
3.5. Riesgos de suelos contaminados por metales pesados	10
3.6. Tecnologías de remediación	12
3.7. Fitorremediación	13
3.8. Características de las especies seleccionadas	14
3.8.1. Frijol	14
3.8.2. Girasol	15
3.8.3. Trigo	17
3.9. Algunos trabajos de fitorremediación	18
IV. JUSTIFICACIÓN	22
V. HIPÓTESIS	22
VI. OBJETIVO GENERAL	22
6.1. Objetivos particulares	23
VII. MATERIAL Y MÉTODO	24
7.1 Material biológico	24
7.2 Germinación	24
7.3. Sustrato y solución nutritiva	24
7.4. Riego	25
7.5. Diseño experimental	25
7.5.1. Rotación	25

7.6. Descripción	26
7.7. Cosecha	26
7.8. Digestión	26
7.9. Análisis de metales pesados	27
7.10. Análisis estadístico	27
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
8.1. Germinación y supervivencia de <i>Triticum vulgare</i> , <i>Helianthus annuus</i> y <i>Phaseolus vulgaris</i>	28
8.2. Altura de las plantas y longitud de las raíces	29
8.2.1. Índice de tolerancia	32
8.3. Floración	32
8.4. Biomasa seca de las plantas	33
8.5. Concentración de Cu, Cd, Ni, Pb y Zn en <i>Triticum</i> <i>vulgare</i> , <i>Helianthus annuus</i> y <i>Phaseolus vulgaris</i>	34
8.6. Análisis estadístico de la concentración de cada metal, por tratamientos	41
8.7. Factor de Traslocación	42
8.8. Total de metales extraídos por <i>Helianthus annuus</i> , <i>Triticum vulgare</i> y <i>Phaseolus vulgaris</i>	43
IX. CONCLUSIONES	44
X. LITERATURA CITADA	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Función biológica, toxicidad, propiedades en suelo y usos de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn	9
Cuadro 2. Metales pesados empleados: rango normal, concentraciones críticas en plantas y concentraciones empleadas en la investigación	25
Cuadro 3. Longitud radical promedio de las plantas testigo y las sometidas al tratamiento con metales pesados.	30
Cuadro 4. Peso total (g) de la biomasa seca de cada especie, por tejido	33
Cuadro 5. Concentraciones promedio de metales pesados (mgKg^{-1} de peso seco) en cada tejido de las tres especies	34
Cuadro 6. Secuencias de concentración de metales en las tres especies	39
Cuadro 7. Prueba de múltiples rangos	41
Cuadro 8. Factor de traslocación (TF) de los metales en girasol, trigo y frijol	42
Cuadro 9. Cantidad de metal extraído ($\mu\text{g/planta}$)	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hojas y frutos de frijol	15
Figura 2. Plantas de girasol en floración	16
Figura 3. Cultivo de trigo	17
Figura 4. Germinadora Friocell	24
Figura 5. Trasplante en los contenedores con agrolita	25
Figura 6. Molido y digestión de muestras vegetales	26
Figura 7. Porcentaje de supervivencia de las tres especies	28
Figura 8. Altura alcanzada por las tres especies	29
Figura 9. Raíz y parte aérea del trigo	31
Figura 10. Raíz y parte aérea del girasol	31
Figura 11. Raíz y parte aérea del frijol	31
Figura 12. Desarrollo de espiga de trigo y flor de girasol; plantas de frijol no presentaron	32
Figura 13. Concentración de metales (mgKg^{-1}), y porcentaje de éstos en trigo	35
Figura 14. Concentración de metales (mgKg^{-1}), y porcentaje de éstos en girasol	36
Figura 15. Concentración de metales (mgKg^{-1}), y porcentaje de éstos en frijol	36

I. RESUMEN

Los mayores problemas ecológico, social y económico que enfrenta la humanidad hoy en día es la contaminación ambiental, particularmente por metales pesados, debido a su persistencia en el medio, ya que el tiempo de residencia de estos en el suelo, puede ser de miles de años y por tanto, representan un riesgo permanente para la salud ambiental y humana. Por lo que surge, la necesidad de remediar los suelos contaminados para poder seguir haciendo uso de ellos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad fitorremediadora del trigo, girasol y frijol para recuperar suelos contaminados con Cu, Cd, Ni, Pb y Zn. El desarrollo experimental se realizó a nivel de invernadero en contenedores con agrolita y riego con solución nutritiva para el testigo y para el tratamiento a la solución se le añadió una mezcla de metales pesados (soluciones estándar de 1000 ppm de Cu, Cd, Zn, Ni, Pb) en concentración crítica (Cd= 4 ppm, Cu= 30 ppm Ni= 15 ppm, Pb=40 ppm y Zn=300 ppm). Semanalmente, se midió altura, flores y/o frutos; al final de la semana 14 se cosechó; las plantas se lavaron, secaron a 50°C hasta peso constante, se digirieron con una mezcla triácida y se determinaron los metales pesados con espectrofotometría de absorción atómica. El trigo presentó una supervivencia del 66% y una altura de 40 cm, a diferencia del girasol y el frijol que solo sobrevivieron el 37% y el 17% respectivamente de los individuos. El frijol desarrolló una altura de 80 cm. De las tres especies, el trigo llegó a fructificar y los girasoles mostraron una flor incipiente. En las tres especies se obtuvieron concentraciones críticas en los diferentes tejidos, los valores más altos a nivel de raíz fueron de 2345 mgKg⁻¹ de Zn y 445 mgKg⁻¹ de Cd en frijol; 787.1 mgKg⁻¹ de Cu, 427.1 mgKg⁻¹ de Ni y 764.2 mgKg⁻¹ de Pb en girasol; 638.12 mgKg⁻¹ de Zn, 163.75 mgKg⁻¹ de Ni, 1062.50 mgKg⁻¹ de Pb y 136.25 mgKg⁻¹ de Cd en flores de girasol; 46.25 mgKg⁻¹ en hojas del girasol. De acuerdo al índice de tolerancia (110.04 a 210.05%) son altamente tolerantes y el factor de traslocación (raíz-tallo) (0.003 a 0.344) determina que las tres especies son acumuladoras de estos metales; se consideran aptas para ayudar en la descontaminación de un sitio y se pueden considerar como fitorremediadoras.

II. INTRODUCCIÓN

Durante siglos, el desarrollo tecnológico, el crecimiento demográfico, la industrialización y el uso de nuevos métodos de agricultura tecnificada han contribuido a la inclusión continua al ambiente de cantidades crecientes de un gran número de sustancias químicas, sintéticas y naturales, que alteran su equilibrio natural rebasando la capacidad del medio para asimilarlas, transformarlas o eliminarlas, causando por tanto, la contaminación de un sitio, siendo los factores edáfico e hídrico, de los más afectados. Se entiende por contaminante a una sustancia que aparece en el ambiente, al menos en parte, como resultado de las actividades humanas, y que tiene un efecto nocivo sobre el entorno (Cicerone *et al.*, 2006).

Si bien la contaminación se origina incluso de manera natural, son las actividades antrópicas las causantes del desequilibrio de los ecosistemas naturales. Desde tiempos remotos, el ser humano ha hecho uso de los recursos líticos para la fabricación de herramientas y utensilios necesarios para su sobrevivencia. Los metales se encuentran entre los materiales más útiles que se conocen; fueron los primeros elementos que se conocieron y han desempeñado papeles importantes en el desarrollo de las civilizaciones (Stoker & Seager, 1981); es a partir del 6000 A.C. aproximadamente, que el hombre logra manejar plenamente recursos como el cobre, bronce y hierro. Actualmente el desarrollo de nuevas tecnologías de toda índole depende de los elementos que se obtienen por actividades minero- metalúrgicas o del reciclaje de otros materiales, ya que muchos de los componentes de los nuevos equipos están fabricados de metales como el hierro, cobre, cadmio, oro, plomo, plata y otros elementos como el silicio (Gocht *et al.*, 1998). Aunque esto implica un claro avance en cuanto a la metalurgia, también implica el inicio de la contaminación de los suelos y consecuentemente del agua, por diversos contaminantes, entre ellos los metales y sus derivados (Stoker & Seager, 1981).

La contaminación por metales pesados se ha convertido en un tema actual tanto en el campo ambiental como en el de salud pública (Castillo *et al.*, 2003). Es importante enfatizar este tipo particular de contaminación debido a la dificultad especial que los metales pesados suponen, principalmente por su persistencia en el medio ya que su tiempo de residencia en

el suelo ronda los miles de años (Navarro *et al.*, 2007), además de que son capaces de acumularse y amplificar su concentración biológica a través de las cadenas tróficas, lo que puede hacer que plantas y animales lleguen a constituir un peligro para la salud al usarse como alimento (Stoker & Seager, 1981).

Además del riesgo para la salud humana y como consecuencia de los daños provocados en el ambiente, la contaminación por metales pesados puede impactar fuertemente otros sectores sociales como el económico; ya que las concentraciones anormales de metales pesados en suelos pueden tener efectos negativos como la pérdida de vegetación, aceleración de procesos erosivos y pérdida de la fertilidad del suelo, pérdida de la biodiversidad, etc., además de que se han observado anomalías como la reducción en la producción de biomasa y las cualidades nutricionales de alimentos cultivados en suelos contaminado aun con niveles moderados de metales pesados (Cottenie *et al.*, 1976; Lepp, 1981; in Assche *et al.*, 1988); es decir, que otro riesgo de este tipo de contaminación es la pérdida de la capacidad de suelos útiles para la producción de alimentos, reduciendo también la cantidad de recursos disponibles para la población.

En la actualidad, gran parte de las tierras dedicadas a la agricultura se han perdido debido a la contaminación de suelos; la pérdida de espacios agrícolas daña al sector primario poblacional y con ello, se provoca la inestabilidad productiva de alimentos y por ende, la escasez de ellos frente al desmedido crecimiento poblacional a nivel mundial. En consecuencia, surge la necesidad de recuperar suelos contaminados (Navarro *et al.*, 2007) para poder seguir haciendo uso de ellos. Se considera que existe contaminación del suelo cuando la composición del mismo se desvía de su composición “normal”, denominado *nivel o fondo biogeoquímico* (Nuñez *et al.*, 2004). Los elementos tóxicos, principalmente los metales pesados, se encuentran generalmente en bajas concentraciones en el medio, aunque con el paso del tiempo, sus niveles se han incrementado.

Durante los últimos años se ha producido un considerable avance en la Biotecnología del campo de la ciencia que se dedica a remediar sitios contaminados, mediante el uso de plantas y organismos relacionados, denominada fitorremediación (Navarro *et al.*, 2007), la

cual representa una de las mejores alternativas para la recuperación, remediación, restauración o rehabilitación de suelos contaminados.

En forma general, la fitorremediación se basa principalmente en las interacciones entre las plantas, el suelo y los microorganismos para eliminar, retener o disminuir la toxicidad de los contaminantes presentes en el suelo. Es una tecnología relativamente nuevas, que permiten remover, estabilizar e incorporar en sus tejidos, a los metales pesados y compuestos orgánicos, entre otros contaminantes (Castillo *et al.*, 2003); es un proceso *in-situ*, que se puede aplicar a sitios contaminados por sustancias orgánicas e inorgánicas (Salt *et al.*, 1998). Hoy en día se realizan investigaciones para conocer los efectos de contaminantes específicos como los metales pesados sobre ciertas especies vegetales, así como para conocer su capacidad fitorremediadora y su posible capacidad como hiperacumuladoras de estos materiales.

En este trabajo se emplearon plantas de importancia alimenticia, frijol, trigo y girasol, en las cuales se consume principalmente la semilla, por lo que es indispensable conocer su potencial fitorremediador, el efecto de los metales pesados sobre ellas y el alcance de estos en las partes comestibles, para determinar si es que representan o no un riesgo para la salud humana al consumir el producto, después de un proceso de descontaminación.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Fuentes de contaminación por metales pesados en México

Una de las actividades que a través del tiempo ha generado índices importantes en cuanto a la generación de contaminantes tóxicos, principalmente metales (y preocupantemente metales pesados), es la minería. La excavación de minas, la remoción de minerales y el proceso y la extracción de metales causan problemas ambientales que en casos extremos pueden alterar o destruir el ecosistema; por ejemplo, dañar tierras de cultivo, favorecer la erosión y contaminar cuerpos de agua con sales solubles de elementos potencialmente tóxicos (EPT), como As, Se, Pb, Cd y óxidos de S entre otros (Volke *et al.*, 2005).

3.2. La minería y la contaminación por metales pesados en México

México es uno de los países de Latinoamérica que se encuentra localizado en una región volcánica rica en minerales. La tradición minera en el país se remonta a la época prehispánica, con la explotación de yacimientos ubicados principalmente en la zona de Taxco, Pachuca, Guanajuato y Querétaro; dicha actividad adquirió una gran relevancia económica y social hasta el periodo de la colonia, convirtiéndose entonces en el motor del crecimiento económico y modernización de la Corona española. La minería suministró insumos a la industria de la construcción, metalurgia, siderurgia y química por más de tres siglos; a nivel mundial el auge de la minería mexicana se tradujo en un importante flujo de metales preciosos, especialmente plata, hacia los circuitos comerciales europeos (Volke *et al.*, 2005). La contaminación de suelos por metales es un problema persistente en muchos sitios del territorio; dos de los contaminantes más frecuentes en las zonas mineras del país son el As y el Pb, además del Cd en algunas de ellas (Volke *et al.*, 2005).

Durante cada una de las operaciones propias de la minería se liberan metales y otros contaminantes en el ambiente; la excavación de minas expone las rocas ricas en metales a una meteorización acelerada; la fundición y el refinado provocan a menudo la liberación de pequeñas cantidades de metales como productos secundarios; los procesos de separación del mineral de los materiales sin valor liberan EPT, los más comunes Pb, Cd, Zn, As, Se y Hg (Gutiérrez & Moreno, 1997; Gutiérrez, 2003; in Volke *et al.*, 2005); en el transcurso de

su empleo los metales están sujetos a corrosión y desgaste, lo cual conduce a pérdidas y en algunos casos implica una liberación directa de los mismos hacia el ambiente, por ejemplo el acetato fenilmercurio utilizado como fungicida, y los aditivos de la gasolina constituidos por tetraetilo de plomo. Además del uso directo, otras actividades humanas provocan contaminación ambiental por metales (Stoker & Seager, 1981).

Otra fuente importante de contaminación por EPT en México es la actividad industrial (Volke *et al.*, 2005). Las industrias especializadas en el proceso de metales (siderúrgicas y metalúrgicas) pueden emitir partículas de dimensiones micrométricas que son fácilmente transportables por el viento a grandes distancias y causan problemas en la salud de las poblaciones (Csuros & Csuros, 2002). Estas actividades generan diversos residuos peligrosos que ante el incumplimiento de la regulación jurídica, se disponen en sitios inadecuados como terrenos aledaños a las plantas industriales especialmente adquiridos para ese propósito, patios de las propias instalaciones industriales o bien, indiscriminadamente en barrancas, ríos, basureros, terrenos baldíos y cañadas entre otros (SEMARNAT, 2004; in Volke *et al.*, 2005).

Algunas otras fuentes, subestimadas, que generan la contaminación de suelos y aguas por metales y metaloides, consideradas por Csuros & Csuros, (2002), son:

Drenaje pluvial; en muchas ocasiones el drenaje pluvial de las ciudades puede contener muchos metales, dependiendo del tipo de material de construcción de los mismos, tráfico, planeación urbanística y uso de suelo.

Descargas y drenajes industriales: actualmente en México, a pesar de que existe normatividad que regula las descargas de las industrias, algunas de ellas, generan residuos con concentraciones mayores de metales por las características de sus procesos que son descargados al drenaje.

Drenaje doméstico: transporta metales desechados por el metabolismo y lixiviados de los materiales de construcción de las tuberías (Cu, Pb, Zn, Cd, Fe, Mn, Cr, Ni, Co, Bo y As). Los tratamientos convencionales para aguas residuales, remueven hasta 50% de los metales contenidos, dejando una carga considerable de metales removidos en los lodos de tratamiento.

Relleno sanitario: el lixiviado que se produce en los rellenos sanitarios normalmente contiene metales como Cu, Zn, Pb y Hg.

Quema de combustibles fósiles: es otra fuente de metales hacia la atmósfera y fuente potencial de contaminación de cuerpos superficiales de agua, ya que la combustión de carbón es una de las principales fuentes de deposición de metales en suelos, además de que las centrales térmicas de combustión de petróleo pueden ser fuentes de plomo, níquel y vanadio.

A pesar de la amplia variedad de las fuentes, la mayoría de contaminantes metálicos terminan por alcanzar las aguas superficiales y subterráneas o incluso las aguas naturales, que eventualmente se depositarán en el suelo (Stoker & Seager, 1981).

3.3. Clasificación de metales

Los metales son sustancias con características de brillo y que son buenos conductores de calor y de electricidad; con excepción del mercurio, todos los metales son sólidos a temperatura ambiente, más o menos maleables (formación de laminas) y dúctiles (formación de alambres). La mayoría posee propiedades de dureza, con excepción de los alcalinos, que son muy suaves. Químicamente, estos tienden a perder electrones para formar iones positivos (cationes) (Csuros & Csuros, 2002). De los 106 elementos conocidos, 85 se clasifican como metales. Por tanto, las oportunidades de contaminación metálica son numerosas. No obstante, no todos los metales representan riesgos para el ambiente; algunos no son tóxicos mientras que otros, aun cuando lo sean, son muy escasos o sus compuestos son insolubles. Como resultado, solo unos pocos de ellos se consideran en la actualidad, como contaminantes ambientales (Stoker & Seager, 1981).

Es común el empleo de los términos *metal pesado* y *metal traza* en el estudio de la contaminación; ambos se originaron a partir de los sistemas usados para subclasificar los metales conocidos (Stoker & Seager, 1981).

El término *metal pesado* se aplica comúnmente a elementos con una densidad (gravedad específica) mayor a 5 g/cm^3 .

El término *metal traza* pretende indicar la abundancia natural del mismo, son los metales que se encuentran en la corteza terrestre en proporciones del 0.1 por ciento o menos (1000

ppm) en peso, y son importantes debido a sus efectos sobre los organismos vivos (Stoker & Seager, 1981).

3.4. Funciones biológicas y toxicidad de los metales pesados

Si bien, es cierto que los organismos requieren en cantidades pequeñas (a nivel de trazas) metales como Co, Cu, Mn, Mo, V, Sr y Zn, también es cierto que niveles altos de los mismos pueden perjudicar a los organismos; otros metales como Hg, Pb y Cd no parecen tener un efecto benéfico sobre la biota, generando su bioacumulación un riesgo para la salud (Cicerone *et al.*, 2006). De acuerdo a la función biológica conocida, algunos metales pesados han sido clasificados en dos grandes grupos:

Oligoelementos o micronutrientes, que son los requeridos en pequeñas cantidades, o cantidades traza por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasado cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo están: As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.

Metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva aparejadas disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Zn, Sb, Bi.

En el cuadro 1, se resumen las propiedades, usos y la función biológica de los elementos utilizados en esta investigación y su toxicidad en plantas y animales, catalogadas como altas (H), medias (M) o bajas (L); los números entre paréntesis presentan la concentración del elemento en tejido de hoja expresado en $\mu\text{g/g}$ de material seco o ppm que muestra toxicidad en plantas que no son altamente sensibles o tolerantes (Cicerone *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Función biológica, toxicidad, propiedades en suelo y usos de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn (Cicerone *et al.*, 2006).

Metal	Función biológica		Propiedades	En suelo	Usos
	Fitotoxicidad	Toxicidad en mamíferos			
Cd	NC		Grupo IIB de la tabla periódica. Estado de oxidación estable de Cd ²⁺ . Raro en cuanto a su abundancia en la corteza terrestre. Peso atómico de 122.4. Densidad de 8.65 g cm ³ . Altamente tóxico (su semejanza química con el cinc) y muy móvil. No es esencial para las plantas ni animales.	Su presencia en la corteza terrestre está relacionada con el cinc, con valores medios en torno a 0.1 mg Kg ⁻¹ (Heinrichs <i>et al.</i> , 1980). La mayoría de los suelos contienen < 1.1mg kg ⁻¹ , excepto aquellos de fuentes contaminadas o desarrollados a partir de materiales parentales con alto contenido de Cd como los esquistos negros	Industrias eléctrica y automovilística, construcción, fontanería, latón, conservación de madera, baterías de cocina, fertilizantes, bactericidas, fungicidas y algicidas, aditivos de comida, promotores del crecimiento, agente para el control de enfermedades en ganadería.
	MH(5-30)				
	H				
Cu	E. Cofactor en enzimas redox		Grupo IB de la tabla periódica. Peso atómico de 63.54. Densidad de 8,9 g/cm ³ . Es un micronutriente esencial para animales y plantas.	Presente en suelos principalmente como ión Cu ²⁺ . Adsorbido en los minerales arcillosos y/o ligados a la materia orgánica. Nivel promedio establecido en el suelo=6 a 80 mg kg ⁻¹ .	Galvanización, pigmentos, aleaciones de bajo punto de ebullición, fabricación de pilas recargables de níquel-cadmio, fusibles para sistemas automáticos, alarmas contra incendios y fusibles eléctricos.
	MH(20-200)				
	M				
Ni	NC mamíferos Puede ser E en plantas. Encontrado en la enzima ureasa.		Grupo VIIIB de la tabla periódica. Peso atómico de 58.6. Densidad de 8,9 g/cm ³ . Metal duro, maleable y dúctil. Presente en formas ligadas con compuestos orgánicos, de las cuales solo una parte puede ser fácilmente soluble.	Una fracción de Ni en el suelo se encuentra en los óxidos de Fe y Mn, y se ha visto que es la forma más disponible para las plantas (Kabata-Pendias & Pendias; 1992). Nivel promedio establecido en suelo = 4 a 55 mg kg ⁻¹	Metalurgia, baterías, equipos solares, galvanización, catalizador en la producción de aceite combustible, implantes quirúrgicos, monedas, lavadores, etc.
	MH(10-100)				
	M				
Pb	NC		Grupo IV A de la tabla periódica. Peso atómico de 207.2. Densidad relativa de 11.34 g/cm ³ . Metal blando, maleable y dúctil. Carece de valor biológico. Debido a su tamaño y carga, el plomo puede sustituir al calcio	Proporción en la corteza terrestre = 15 ppm mgKg ⁻¹ . Nivel promedio establecido en suelo =10 a 84 mg Kg ⁻¹ . Retarda la degradación heterótrofa de la materia orgánica. Tiende a ubicarse en el sistema radicular de las plantas. Se acumula naturalmente en suelos superficiales.	Baterías, aditivos para gasolina, pigmentos, munición, soldadura, pintura, industria automovilística.
	M(30-300)				
	H				
Zn	E Cofactor enzimático.		Grupo IIB de la tabla periódica. Estado de oxidación estable de Zn ²⁺ . Conocido por la complejidad de su comportamiento químico y por su elevada solubilidad. Peso atómico de 65.4. Densidad de 7.14 g cm ⁻³ (Pais & Benton; 1997).	Considerado por su relativa abundancia, como uno de los principales contaminantes potenciales para el medio ambiente. El contenido total registrado en los suelos varía normalmente de 10 a 300 ppm.	Aleaciones, bronce y latón, galvanización, industria automotriz, baterías, pantallas de televisión, equipos eléctricos pinturas, barnices, productos agrícolas, cosméticos y medicinales.
	LM(100-400)				
	LM				

NC= no conocida

E= esencial

Aunque los cinco elementos utilizados para este trabajo son metales pesados, el caso del Cu y el Zn es especial ya que se requiere de una mayor concentración de ellos para alcanzar niveles críticos de bioacumulación en los organismos debido a que son elementos esenciales para la vida; caso contrario al Ni, Pb y Cd que aun en cantidades bajas representan concentraciones críticas por lo que son aún más peligrosos. Sin embargo, los cinco elementos tienen usos industriales muy comunes, como se muestra en el Cuadro 1. Durante este proyecto se evaluó el potencial fitorremediador de *Phaseolus vulgaris*, *Triticum vulgare* y *Helianthus annuus* (por su importancia alimenticia y económica) para Cu, Cd, Ni, Pb y Zn debido a la abundancia de estos metales, así como los efectos negativos sobre el ambiente y la salud.

3.5. Riesgos de suelos contaminados por metales pesados

Los metales pesados en el suelo, suponen un riesgo por: su *lixiviación* hacia aguas superficiales y subterráneas, *absorción por las plantas*, y finalmente, el *paso a la cadena trófica* (Carpena & Bernal, 2007). Los riesgos producidos son función, fundamentalmente de características como:

- **Persistencia**; se define como el tiempo que tarda un contaminante en transformarse en una forma no tóxica. Los metales tienen una vida media prolongada y a diferencia de los contaminantes orgánicos, no pueden degradarse ni biológica ni químicamente en la naturaleza; los compuestos que los contienen, pueden alterarse, y otros que son recalcitrantes permanecen en el ambiente y en algunos casos llegan a reaccionar produciendo formas más tóxicas de este; su estabilidad permite que sean transportados a distancias considerables tanto por aire como por agua (Stoker & Seager, 1981).

- **Biodisponibilidad**; qué tanto se encuentra disponible para los seres vivos, es decir, si se encuentra en una forma química que puede ser asimilada por un organismo. La biodisponibilidad de los compuestos químicos depende de su especiación química (Cicerone *et al.*, 2006). Cuando se dan niveles muy altos de biodisponibilidad, tanto los elementos esenciales (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B y Cl) como los no esenciales (Cd, Pb, Hg) pueden ser tóxicos (Carpena & Bernal, 2007).

- **Toxicidad;** que depende de la concentración, la forma química y la persistencia. Un elemento indispensable para un ser vivo en concentraciones traza puede llegar a ser tóxico en concentraciones elevadas.

- **Carácter bioacumulativo;** que hace referencia a la acumulación neta, con el paso del tiempo, de metales (u otras sustancias persistentes) en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua) (Cicerone *et al.*, 2006).

- **Capacidad de biomagnificación;** muchos contaminantes que se encuentran diluidos en el medio pueden magnificar su concentración dentro de las células y membranas de los organismos alcanzando altos niveles de peligrosidad. Este proceso tiene lugar a partir de los mecanismos naturales por los que las células, por tanto, los organismos obtienen sus nutrientes, elementos y vitaminas básicos. La biomagnificación se produce a nivel del ecosistema. Ocurre cuando la concentración de un contaminante tóxico aumenta a medida que ascendemos en los eslabones tróficos del ecosistema. Aquellos contaminantes que son persistentes, móviles, solubles en grasas y activos biológicamente tienen mayores posibilidades de biomagnificarse. Entre los mismos podemos citar al DDT, los PCBs, PAHs, algunos metales, etc. (Cicerone *et al.*, 2006).

Otro aspecto importante a considerar es la presencia simultánea (mezcla) de los metales pesados, ya que sus efectos pueden ser tanto tóxicamente sinérgicos o antagónicos, por tanto existe cierta dificultad para predecir los efectos reales de los contaminantes en el medio. Los efectos de un compuesto o de la mezcla de ellos pueden ser inocuos, letales o subletales (no matan al individuo pero producen daños a nivel genético o fisiológico). Con frecuencia, los daños subletales suelen ser más perjudiciales para la población en general, ya que afectan al desarrollo o a la reproducción. La causa primaria de la elevada toxicidad a nivel químico es que los metales pesados poseen una gran capacidad para unirse con moléculas orgánicas (Navarro *et al.*, 2007).

Con base en el grave problema que representa la contaminación ambiental y la gran diversidad de contaminantes existentes en la actualidad, hoy en día existen diferentes técnicas de tratamiento para remediar o recuperar los sitios contaminados.

3.6. Tecnologías de remediación

El término tecnología de remediación implica el uso de operación unitaria o conjunto de ellas, que altere la composición de un contaminante peligroso a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan su toxicidad, movilidad o volumen en la matriz o material contaminado. Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de residuos peligrosos sin tratamiento y sus posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio pueden variar ampliamente (Volke *et al.*, 2005). De manera general, existen tratamientos:

- **Físicos y químicos;** son técnicas *ex-situ* (fuera del sitio) que requieren de métodos mecánicos y químicos para el tratamiento de un suelo o agua contaminados.
- **Térmicos;** son técnicas que requieren de la utilización de energía, principalmente eléctrica para la eliminación de la contaminación de suelos al manejar temperaturas de entre (300 a 1500°C). Regularmente estas técnicas no permiten un uso posterior del suelo.
- **Biológicos o de biorremediación;** (implica la descontaminación de un sitio por la vía biológica) este término se emplea para describir una variedad de sistemas que utilizan el potencial metabólico de organismos vivos (plantas, hongos y bacterias, entre otros) para limpiar ambientes contaminados; estas alternativas surgieron a partir de las últimas décadas del siglo XX. En el caso de sitios contaminados por metales, los microorganismos pueden modificar su movilidad en el ambiente a través de cambios en sus características físicas o químicas. Dentro de estas técnicas se encuentra la *fitorremediación* (Salt *et al.*, 1998).

3.7. Fitorremediación

La fitorremediación, también llamada *fitorrecuperación*, *fitocorrección*, *fitorrestauración* o *fitorrehabilitación*) puede definirse de manera completa, como una tecnología sustentable que se basa en el uso conjunto de plantas verdes, enmiendas del suelo y técnicas agronómicas para eliminar, retener o disminuir *in situ* la movilidad, concentración, toxicidad o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de suelos, sedimentos, agua, y aire, a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a su sistema de raíz que conducen a la reducción, mineralización, degradación, volatilización y estabilización de los diversos tipos de contaminantes (Salt *et al.*, 1998; Chaney *et al.*, 1997; Madrid *et al.*, 2003; in January *et al.*, 2008). Aunque es relativamente nueva (años 90'), se ha convertido en una técnica de recuperación prometedora con el descubrimiento de hiperacumuladoras, plantas que son capaces de absorber y retener grandes cantidades de metales (Roosens *et al.*, 2003; in January *et al.*, 2008).

En los últimos años se ha generado una terminología nueva basada en el papel que tienen las plantas durante el proceso de remediación, así como de los principales mecanismos involucrados, de forma que se han definido las siguientes estrategias de fitorremediación (Núñez *et al.*, 2004; Carpena & Bernal, 2007):

- **Fitoextracción:** uso de plantas acumuladoras de elementos tóxicos o compuestos orgánicos para retirarlos del suelo mediante su absorción y concentración en las partes cosechables.
- **Fitoestabilización:** uso de plantas para reducir la biodisponibilidad de los contaminantes en el entorno, mejorando las propiedades físicas y químicas del medio.
- **Fitoinmovilización:** uso de las raíces de las plantas para la fijación o inmovilización de los contaminantes en el suelo.
- **Fitovolatilización:** uso de plantas para eliminar los contaminantes del medio mediante su volatilización, y para eliminar contaminantes del aire.
- **Fitodegradación:** uso de plantas y microorganismos asociados para degradar contaminantes orgánicos.
- **Rizofiltración:** uso de raíces para absorber y adsorber contaminantes del agua y de otros efluentes acuosos.

En forma general, las medidas correctivas para contaminantes orgánicos incluyen:

- la fitodegradación (o fitotransformación) y la fitoestimulación,

Mientras que para los metales pesados, incluidos los metaloides y radionúclidos, se aplican:

- la fitovolatilización, la fitoestabilización, la fitoextracción y la rizofiltración.

3.8. Características de las especies seleccionadas

3.8.1. Frijol

El fríjol es originario de América; es una especie dicotiledónea anual, que presenta una enorme variabilidad genética, existiendo miles de cultivares que producen semillas de los más diversos colores, formas y tamaños. Si bien el cultivo se destina mayoritariamente a la obtención de grano seco, tiene una importante utilización hortícola, ya sea como frijol verde o granado (FENALCE, 2012).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae
Subreino: Embriobionta
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: *Phaseolus*
Especie: *Phaseolus vulgaris*

Morfología de la planta

Raíz: aunque presenta variación se considera fibrosa, está formada por la raíz primaria sobre la cual están dispuestas en forma de corona las secundarias, terciarias etc.; por medio de los pelos absorbentes la planta vive en simbiosis con bacterias del género *Rhizobium* fijadoras del nitrógeno atmosférico.

Tallo: herbáceo y semileñoso al final del ciclo; es una sucesión de nudos y entrenudos donde se insertan las hojas y los diversos complejos axilares; es de color verde, rosa o morado, glabro o pubescente.

Hojas: de dos tipos, simples y compuestas. Los cotiledones constituyen el primer par de hojas, el segundo par son las primeras hojas verdaderas, son simples, opuestas y cortadas, a partir del tercer nudo se desarrollan las hojas compuestas, que son alternas, de tres folíolos, un peciolo y un raquis; presentan variación en cuanto a tamaño, color y pilosidad.

Flores: se desarrollan en una inflorescencia de racimo, que puede ser terminal o lateral.

Inflorescencia: consta de pedúnculo, raquis, brácteas y botones florales que se desarrollan en las axilas de las brácteas y pueden ser blancas, rosada o de color púrpura.



Figura 1. Hojas y frutos de frijol

Fruto: se desarrolla en forma de vaina con dos suturas laterales, las semillas se unen a las valvas en forma alterna sobre la sutura plavental; la semilla está formada por dos cotiledones.

Tanto en su forma silvestre como cultivados es anual, y el ciclo vegetativo puede variar de 80 días en las variedades precoces hasta 180 días en variedades trepadoras. La sucesión y duración de las diferentes etapas aunque están determinadas genéticamente en cada variedad se ven afectadas en cierto grado por las condiciones del medio, siendo los factores del clima como temperatura, humedad, duración e intensidad de la luz, los más importantes (COVECA, 2011).

3.8.2. Girasol

El girasol es uno de los principales cultivos anuales utilizados para la extracción de aceite en el mundo. Es una planta anual originaria del continente americano, específicamente de la parte centro y norte de México, parte sur y oeste de los Estados Unidos de América, aunque también se encuentra en Canadá, Ecuador, Colombia y Perú, donde aún es posible encontrarlo en forma silvestre; en la actualidad se cultiva en casi todo el mundo, principalmente en países de clima templado como Argentina, Rumania y Rusia (INIA, 2009).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Asterales
 Familia: Asteraceae
 Subfamilia: Asteroideae
 Tribu: Heliantheae
 Género: *Helianthus*
 Especie: *Helianthus annuus*

Morfología de la planta

Raíz: posee una raíz pivotante, de donde nacen raíces secundarias y terciarias; puede alcanzar una profundidad de hasta 1,5 m.

Tallo: posee un tallo único, de color verde, con una pubescencia variable, puede alcanzar hasta 2,20 metros de altura y el diámetro puede llegar a medir de 2 a 5 centímetros. La altura ideal desde el punto de vista del manejo del cultivo, es de 1,70 y 2 metros.

Hojas: generalmente tienen forma acorazonada, poseen una textura rugosa con pubescencia o sin ella; los dos ó tres primeros pares de hojas son opuestas y las demás alternas; el número varía entre 20 y 40 hojas.

Inflorescencia: corresponde a un capítulo ubicado en la parte superior del tallo, compuesto por un receptáculo carnoso en el que se insertan las flores, que son de dos tipos:

a) liguladas o estériles, se presentan en un número entre 30 a 70, dispuestas radialmente en una o dos filas en la periferia del capítulo; tienen de 6 a 10 centímetros de longitud y de dos a tres centímetros de ancho, su color varía entre amarillo dorado, amarillo



claro o amarillo anaranjado, y b) flores fértiles, que son mucho más numerosas y se ubican en el centro del capítulo, cada una posee un ovario y un solo óvulo de cuya fecundación nace el fruto, que corresponde a un fruto seco e indehiscente llamado aquenio, de color blanco, negro o una mezcla de ambos en forma estriada, consta del pericarpio o cáscara que recubre la semilla verdadera.

En la práctica se distinguen cuatro fases de crecimiento, siembra a iniciación floral, fase iniciación floral, fase de llenado del grano y

Figura 2. Plantas de girasol en floración

fase de madurez fisiológica-cosecha. Se recomiendan suelos que tengan de moderada a alta fertilidad natural, una reacción ácida

representada por un valor de pH mayor a 5.8; los suelos deben ser profundos y con una retención de humedad de moderada a alta (Miranda & Badillo, 1990).

3.8.3. Trigo

El trigo es una planta anual, cuyo grano es utilizado para hacer harina, harina integral, sémola, cerveza y una gran variedad de productos alimenticios (Forero, 2000); es uno de los tres cereales más producidos globalmente, junto al maíz y el arroz (Dendy, 2001), y el más ampliamente consumido por el hombre en la civilización occidental desde la antigüedad. Tiene sus orígenes en la antigua Mesopotamia, aunque actualmente es ampliamente cultivada en todo el mundo (Belderok, 2000).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Liliopsida
 Orden: Poales
 Familia: Poaceae
 Subfamilia: Pooideae
 Tribu: Triticeae
 Género: *Triticum*
 Especie: *Triticum vulgare*

Morfología de la planta

Raíz: posee una raíz fasciculada, es decir, con numerosas ramificaciones las cuales alcanzan en su mayoría una profundidad de 25 cm, llegando algunas de ellas hasta un metro de profundidad.

Tallo: es una caña hueca con 6 nudos que se alargan hacia la parte superior, alcanzando entre 0,5 a 2 metros de altura, es poco ramificado.

Hojas: tienen una forma linear lanceolada (alargadas, rectas y terminadas en punta) con vaina, lígula y aurículas bien definidas.

Inflorescencia: es una espiga compuesta por un raquis sobre el cual van dispuestas 20 a 30 espiguillas en forma alterna y laxa o compacta, llevando cada una 9 flores (la mayoría de las cuales abortan), rodeadas por glumas o glumillas.



Figura 3. Cultivo de trigo

Granos: son cariósides que presentan forma ovalada con sus extremos redondeados, con una ranura en la parte ventral. El endospermo, representa el 82% del peso del grano. El pericarpio y la testa, juntamente con la capa aleurona, conforman el salvado de trigo (Kent, 1975).

Crece en ambientes con temperatura mínima de 3 °C y máxima de 30 a 33 °C, siendo una temperatura óptima entre 10 y 25 °C; requiere una humedad relativa entre 40 y

70%; se puede cultivar en zonas con precipitaciones entre 25 y 2800 mm anuales de agua,

aunque la cantidad optima es de 400 -500 mm/ciclo. Los mejores suelos para su crecimiento deben ser sueltos, profundos, fértiles y libres de inundaciones, y deben tener un pH entre 6,0 y 7,5; en terrenos muy ácidos es difícil lograr un adecuado crecimiento (Kent, 1983). La siembra en cultivos rotativos de trigo es muy benéfica para los suelos ya que ayuda a mejorar la estructura de los mismos, proporcionando mayor aireación, permeabilidad y retención de humedad (Kent, 1983).

3.9. Algunos trabajos de fitorremediación

En México los trabajos dedicados al estudio de la contaminación por metales pesados son escasos y en su mayoría están encaminados solo a caracterizar zonas contaminadas, de manera general, se han realizado proyectos sobre fitorremediación acuática, en su mayoría enfocados a metales pesados, mientras que proyectos relacionados con fitorremediación de suelos se han centrado en los hidrocarburos del petróleo (Nuñez *et al.*, 2004).

Al comparar con otros países donde se han realizado investigaciones exhaustivas desde principios de los sesenta, que han conducido a la implementación y optimización de sistemas de fitorremediación tanto terrestre como acuática, en nuestro país prácticamente estamos comenzando. Dentro del área de ciencias ambientales de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza se han realizado trabajos a nivel de tesis, referentes a fitorremediación; algunos de estos son:

Callejas (2009), trabajó con *Cynodon dactylon* y *Senna tomentosa* para conocer su capacidad como plantas fitorremediadoras de metales pesados (Zn y Cd) y encontró que *Cynodon dactylon* es hiperacumuladora para Cd y solo tolerante para Zn y *Senna tomentosa* es hiperacumuladora para Cd y Zn; las dos especies pueden emplearse como fitorremediadoras.

Jiménez (2004), evaluó la concentración de metales pesados (Cd, Pb y Zn) en suelo y hortalizas de cuatro canales de la zona chinampera de Xochimilco, D.F. En cuanto a las hortalizas analizadas: para cadmio, la especie que presentó mayor concentración fue la verdolaga y la menor espinaca; para plomo, la mayor concentración se presentó en brócoli

y la menor en espinaca; y finalmente, para zinc, en romero se obtuvo la concentración más alta y en verdolaga la más baja.

Talavera (2003), realizó una transformación química *in situ* de los metales Fe, Cu y Zn, encontrados en un sitio de deposición de desechos industriales en el Estado de Hidalgo, con el fin de disminuir su concentración en el suelo y recuperar sus condiciones naturales; trabajó con *Brassica napus* y *Zea mays* a nivel de invernadero, en suelo contaminado y lavado, y concluyó que ambas especies extraen los metales en el tratamiento con suelo lavado; *B. napus* acumuló más Fe y Cu en raíz y hojas respectivamente, mientras que *Z. mays* acumuló más Zn en tallo.

A nivel internacional existe gran cantidad de artículos científicos acerca de fitorremediación de metales pesados, sin embargo, la mayor parte de estos trabajos se refieren al análisis de la concentración de diferentes elementos en las estructuras que componen a las plantas, pero no hay muchos trabajos sobre especies comestibles, donde el fruto y las semillas son las que se consumen y por lo tanto, no se plantea la posibilidad del aprovechamiento de los productos obtenidos después de proceso. Por ejemplo:

Álvarez *et al.*, (2003), determinaron la concentración de Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Ni, Cd y Pb en el vertedero de una mina abandonada, en Galicia, España, y la compararon con su acumulación en cuatro especies (*Festuca* sp., *Salix atrocinerea*, *Frángula alnus* y *Quercus robur*), que crecen en el sitio.

Arienzo *et al.*, (2004), a nivel de invernadero determinaron el empleo del (*Lolium perenne*) para revegetar suelos contaminados por la industria metalúrgica ferrosa en Nápoles, Italia.

Dahnani-Muller *et al.*, (2000), investigaron estrategias de tolerancia de las especies, *Armería marítima* ssp., *Arabidopsis halleri* y *Cardaminopsis lialleri* y una pseudometalofita (*Agrostis tennensis*) para cuatro metales pesados (Zn, Cd, Pb y Cu).

Dahniani-Muller *et al.*, (2001), trabajaron con *Arabidopsis halleri* como planta extractora de cuatro metales pesados (Zn, Cd, Cu, y Pb) evaluando la capacidad de crecer y de extraer metales de diversos substratos en un suelo no contaminado enmendado con varios sólidos de metales recogidos en suelos alrededor de un complejo fundidor de Zn.

Del Río *et al.*, (2002), en cambio, presentaron un estudio de caso, donde se utilizaron y estudiaron 99 especies diferentes de plantas para fitorremediar una amplia zona contaminada por arsénico y metales pesados, como consecuencia del derrame tóxico en la mina de Aznalcóllar, España, siendo *Amaranthus blitoides* la especie más prometedora para la descontaminación del área.

Gardea-Torresdey *et al.*, (2004), determinaron la bioacumulación de tres metales pesados (Cr, Cd, y Cu) en un tipo de enredadera (*Convolvulus arvensis*) para emplearla como fitorremediadora.

Gupta *et al.*, (2007), evaluaron la fitoextracción con *Phaseolus vulgaris* de metales pesados de suelos contaminados por la deposición de cenizas, en dos tipos de enmiendas y observaron que el Cr se concentró por debajo del límite permitido.

Kranner & Colville, (2010), investigaron el transporte de metales en las semillas en desarrollo, la localización específica de los metales en el tejido dentro de las semillas, y, finalmente, la absorción de metales en el suelo por semillas intactas.

Madejón *et al.*, (2003), trabajaron con cinco metales pesados (As, Cd, Cu, Pb y TI) que se acumulan en girasol que crece en suelos contaminados de España por un derramamiento tóxico en la mina de la pirita de Aznalcóllar, España.

Madejón *et al.*, (2002), además, han estudiado a *Cynodon dactylon* que se desarrolla en un sitio contaminado por cuatro metales pesados (As, Cd, Cu y Pb) debido a la concentración mineral de los alimentos por el desplome de la presa del Tizón en la mina de pirita de Aznalcóllar, España.

Marchiol *et al.*, (2004), realizaron estudios de fitorremediación para seis metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn) en dos especies de cañóla y rábano (*Brassica napus* y *Raphanus sativus*) para estudiar su potencial de fitoextracción, cultivados en un suelo multi-metal contaminado.

Narr *et al.*, (2002), estudiaron la interacción de Cd y Zn y su transferencia hacia cultivos de *Triticum aestivum* L. y *Zea mays* L.

Otte *et al.*, (1993), trabajaron con suelos y plantas (*Spartina anglica* y *Áster tripolium*) de marismas, relacionando las distintas concentraciones de metales pesados.

Peralta-Videa *et al.*, (2004), utilizaron plantas de alfalfa en diferentes etapas de crecimiento, aplicando dosis de 500 mg/L de Cr (VI), Cd (II), Cu (II), Ni (II), o Zn (II) y encontraron que entre más jóvenes eran los organismos, los metales presentaron efectos letales más fuertes sobre los cultivos.

Robinson *et al.*, (1997), determinaron el potencial de (*Berkheya coddii*) como hiperacumuladora de Níquel y su uso como fitorremediadora de suelos contaminados.

Stanley (2007), trabajó con cosechas domésticas de alfalfa, trébol, maíz, centeno, sorgo y soja en suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo, y empleó plantas de tabaco para la fitorremediación en suelos contaminados con cadmio, cobre y zinc.

Zhang *et al.*, (2010), evaluaron el potencial de cuatro pastos forrajeros (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke x *Pennisetum purpureum* Schumach, *Silphium perfoliatum* Linn, *Paspalum atratum* cv. Reyan No. 11 and *Stylosanthes guianensis* cv. Reyan II), para remediar suelos contaminados con Cd y Zn, y encontraron que, altas concentraciones de Cd aumentaron significativamente la biomasa de *Pennisetum americanum* (L.) Leeke x *Pennisetum purpureum* Schumach, mientras que altas concentraciones de Zn disminuyeron la biomasa de las cuatro especies.

IV. JUSTIFICACIÓN

La importancia de este trabajo se basa en evaluar el potencial fitorremediador de tres plantas comestibles, con el fin de ampliar el conocimiento acerca de las especies seleccionadas dentro del marco de la recuperación de suelos contaminados. Se empleó trigo, girasol y frijol, para evaluar si los metales pesados llegan a las estructuras reproductoras y conocer cuál especie es mejor en el proceso de descontaminación.

Con base a lo anterior, se pretende responder las siguientes preguntas:

¿*Triticum vulgare*, *Phaseolus vulgaris* y *Helianthus annuus* son especies con potencial fitorremediador?

¿Los metales pesados se traslocarán a los frutos y a las semillas producidas por estas plantas?

V. HIPÓTESIS

Las plantas serán fitorremediadoras de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn ya que estos solo llegarán hasta la parte vegetativa, de tal manera que las semillas no los acumularán.

VI. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial fitorremediador de *Phaseolus vulgaris*, *Triticum vulgare* y *Helianthus annuus* en un cultivo hidropónico, con una mezcla de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn.

6.1. Objetivos particulares:

- 1) Determinar el porcentaje de germinación de las semillas seleccionadas.
- 2) Evaluar el crecimiento de los testigos y los tratamientos con metales pesados.
- 3) Evaluar la concentración de metales pesados en raíz, tallo, hoja, flor, fruto y semilla, mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica en ambos tratamientos (testigos y tratamientos).
- 4) Evaluar el potencial fitorremediador de cada especie por medio de los siguientes índices:

Cantidad de metal extraído ($\mu\text{g/planta}$) (Zhang *et al.*, 2010)

= Concentración de metal en el tejido vegetal* biomasa vegetal

Índice de Tolerancia (Wilkins, 1978)

= (Medida de la longitud de la raíz en solución con metal/Medida de la longitud de la raíz en solución sin metal) *100

Factor de Traslocación (TF) (Fellet *et al.*, 2007)

= C Tallos / C Raíces, donde C representa la concentración del metal en tallos y raíces

VII. MATERIAL Y MÉTODO

El trabajo experimental se realizó de la siguiente manera:

- El cultivo hidropónico de las plantas, se llevó a cabo en el invernadero de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Campo II.
- La digestión y análisis de las muestras vegetales, se realizaron en el Laboratorio L301 de Contaminación y Fitorremediación de suelos y el Laboratorio de Servicios de la Carrera de Biología (Absorción Atómica), respectivamente, de la Facultad.

7.1. Material biológico

Se emplearon 60 semillas comerciales de trigo común (*Triticum vulgare*), 60 de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y 60 de girasol (*Helianthus annuus*).

7.2. Germinación

Las semillas se colocaron en cajas Petri con algodón y papel filtro, en la germinadora Marca Friocell bajo condiciones de luz y oscuridad (12h /12h), temperatura (25°C) y humedad controlada (Figura 4).



Figura 4. Germinadora Friocell

7.3. Sustrato y solución nutritiva

El sustrato empleado fue agrolita; se irrigó, en el caso de los testigos con una solución nutritiva comercial Hydroenvironment, las plantas del tratamiento, se irrigaron con una preparación de la misma solución nutritiva adicionada con una mezcla de metales pesados en concentración conocida (a partir de soluciones patrón comercial Hycel), tomando en cuenta los valores normales y críticos para plantas, de acuerdo con Alloway, (1990) como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Metales pesados empleados: rango normal, concentraciones críticas en plantas y concentraciones empleadas en la investigación (*).

ELEMENTO	Rango normal en plantas (mg Kg ⁻¹) a	Concentración crítica en plantas (mg Kg ⁻¹)		Concentración empleada (mg Kg ⁻¹) *
		[1]	[2]	
Cd	0.1-2.4	5-30	4-200	4
Cu	5-20	20-100	5-64	30
Ni	0.02-5	10-100	8-220	15
Pb	0.2-20	3-300	-	40
Zn	1-400	100-400	100-900	300

Bowen, 1979^[a]; Kabata-Pendias & Pendias^[1], 1984; McNichol^[2], 1985.

7.4. Riego

El riego con ambas soluciones fue constante para mantener el sustrato húmedo.

7.5. Diseño experimental

Por cada especie se formaron dos lotes (testigos y tratamientos), de 15 macetas cada uno; las macetas consistieron en recipientes de PVC de 25 cm de altura y 10 cm de diámetro, llenos hasta los 20 cm con sustrato, cada uno de ellos contenía una plántula de trigo, frijol o girasol, de acuerdo con el lote, (Figura 5).



Figura 5. Trasplante en los contenedores con agrolita

7.5.1. Rotación

Los lotes de plantas fueron constantemente rotados, para que tuvieran las mismas condiciones de luz solar.

7.6. Descripción

A partir del trasplante, y durante 14 semanas de tratamiento, se registraron la altura, número de hojas, número de tallos, ramas u hojas, presencia de flores, frutos o semillas, y porcentaje de supervivencia.

7.7. Cosecha

Al término del tratamiento, las plantas fueron cosechadas cuidadosamente, cada individuo se midió, se pesó y se enjuagó con agua desionizada; todas las plantas se secaron en la estufa hasta peso constante.

7.8. Digestión

Los organismos secos fueron seccionados en raíz, tallo, hojas, flores o espigas, de acuerdo con la especie; las estructuras vegetales y reproductivas fueron pesadas y molidas para su digestión en una mezcla triácida (Radojevic & Bashkin, 1999), (Figura 6).



Figura 6. Molido y digestión de muestras vegetales

7.9. Análisis de metales pesados

Se determinó la concentración de Cu, Cd, Ni, Pb y Zn, absorbidos en raíces, tallos, hojas, flores o espigas de cada especie, mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con el equipo Spectraa 200 marca VARIAN (Zapata & Galván, 2004).

7.10. Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos Anova simple con el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel del 95.0% de confianza, a los datos de concentración de metales, longitud de la raíz y peso de la biomasa seca de las plantas, utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI.I

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Germinación y supervivencia de *Triticum vulgare*, *Helianthus annuus* y *Phaseolus vulgaris*

Las tres especies presentaron un porcentaje de germinación superior al 80%. Chakravarty & Srivastava, (1992) al trabajar con girasol, obtuvieron un porcentaje de germinación superior al 20% en semillas comerciales y Gutiérrez *et al.*, (2011), al emplear semillas silvestres de girasol, también consiguieron un 23.5% de germinación.

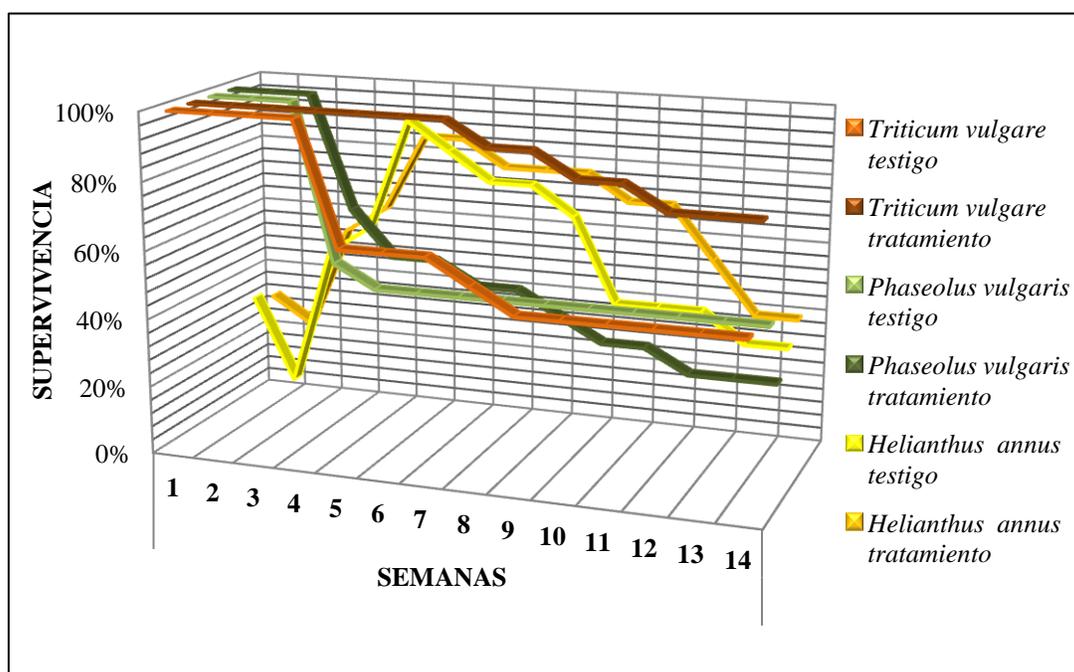


Figura 7. Porcentaje de supervivencia de las tres especies

Las plantas de trigo del tratamiento con metales pesados presentaron un mayor porcentaje de supervivencia (66%), que las plantas testigo (30%), las plantas de girasol del tratamiento con metales pesados sobrevivieron más (37%) que los testigos (28%), mientras que en el frijol sobrevivieron más los individuos testigo (34%) que los del tratamiento (17%), durante las 14 semanas del experimento, (Figura 7).

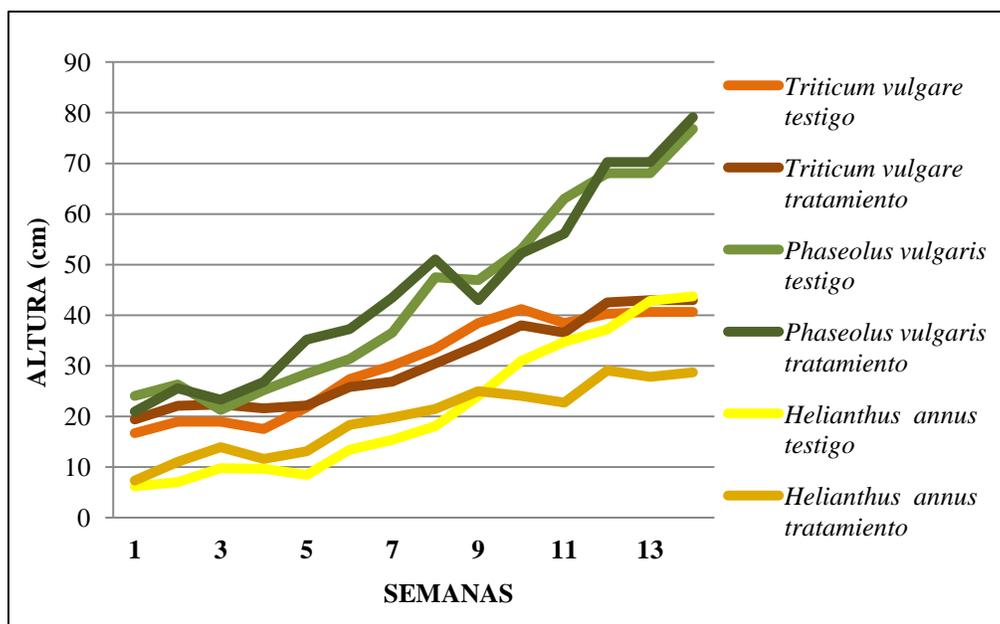
8.2. *Altura de las plantas y longitud de las raíces*

Figura 8. Altura alcanzada por las tres especies

En el caso de *Triticum vulgare*, ambos tratamientos alcanzaron una altura promedio de 40 cm (Figura 8), para esta especie se considera que es una altura baja (Kent, 1983) ya que de manera natural esta especie puede llegar hasta los 2 m; *Phaseolus vulgaris* llegó a los 75 cm (Figura 8), menor a la altura promedio del frijol cultivado (2 m o más) (FENALCE, 2012), aunque fue mayor (20 cm) a la obtenida por Assche *et al.*, (1988) quienes trabajaron la misma especie en cultivos hidropónicos contaminados con Cd y Zn. Las alturas obtenidas en los testigos (40 cm) de *Helianthus annus* (Figura 8), crecieron aproximadamente 10 cm más que los individuos del tratamiento (30 cm), ambas por debajo de la altura promedio para la especie, que va desde los 1.70 hasta los 2.20 m (INIA, 2009), además se menciona, que esta planta crece óptimamente en lugares soleados y con suelos secos, lo que pudo ser la razón de que estas plantas no se adaptaran al cultivo hidropónico y su crecimiento se viera afectado.

Durante el tratamiento, los individuos de las tres especies presentaron *síntomas de clorosis y necrosis*, principalmente *Phaseolus vulgaris* y *Helianthus annus*, fenómeno reportado en plántulas de frijol al crecer en concentraciones altas de Cu (Bouazizi *et al.*, 2010); el efecto de los metales pesados en el contenido de clorofila, da como resultado una reducción en la

actividad fotosintética, lo que causaría una reducción en el crecimiento de las especies (Upadhyay & Panda, 2009). El crecimiento retardado de las plantas se refleja en el decremento del número de hojas, área foliar, raíz y longitud del tallo, así como de la biomasa total, algunos estudios han relevado el antagonismo de Cd en la absorción y transporte de elementos esenciales tales como Cu y Zn e irreversiblemente los reemplaza en las reacciones enzimáticas necesarias en RNA y DNA y metabolismo de proteínas por lo que la deficiencia de elementos esenciales puede explicar el decremento del crecimiento de la planta durante el tratamiento con Cd (Tripathi *et al*, 2004).

Cuadro 3. Longitud radical promedio de las plantas testigo y las sometidas al tratamiento con metales pesados

Especie	Testigos	Tratamientos con metales pesados
<i>Triticum vulgare</i>	9.88 cm a	20.75 cm b
<i>Helianthus annuus</i>	2.87 cm a	4.86 cm b
<i>Phaseolus vulgaris</i>	13.60 cm a	14.96 cm b

NOTA: Letras diferentes en la misma especie indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre cada par de medias, de acuerdo con el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel del 95.0% de confianza.

Las plantas del tratamiento con metales, presentaron raíces más largas que las plantas testigo, debido principalmente al estrés de la presencia de metales pesados, lo que provoca que las raíces se extiendan por la búsqueda de un sitio donde no se detecten los contaminantes y al desarrollo de un mecanismo de tolerancia para reducir el efecto del estrés (Bouazizi *et al.*, 2010); al comparar la longitud radicular promedio de las tres especies (Cuadro 3), se observa que el frijol presentó la mayor longitud en los testigos, mientras que en los tratamientos las raíces más largas fueron las del trigo, (Figuras 9-11).

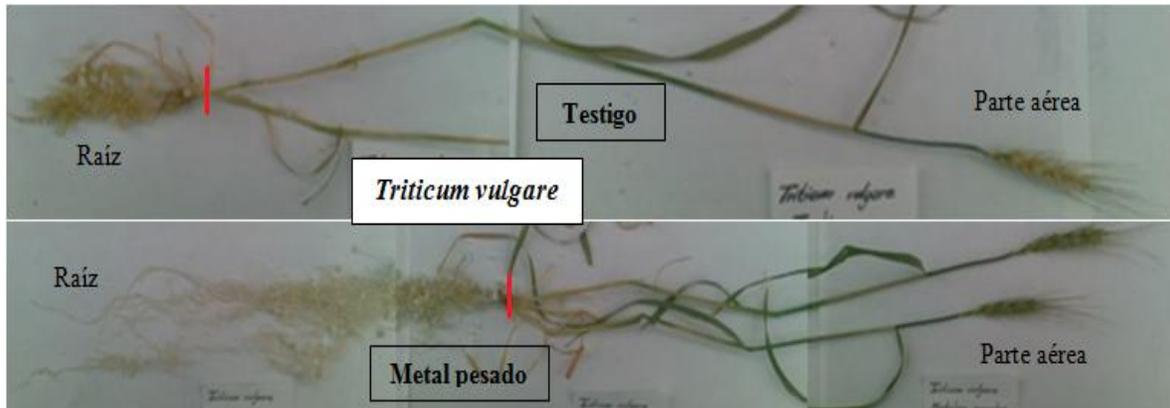


Figura 9. Raíz y parte aérea del trigo

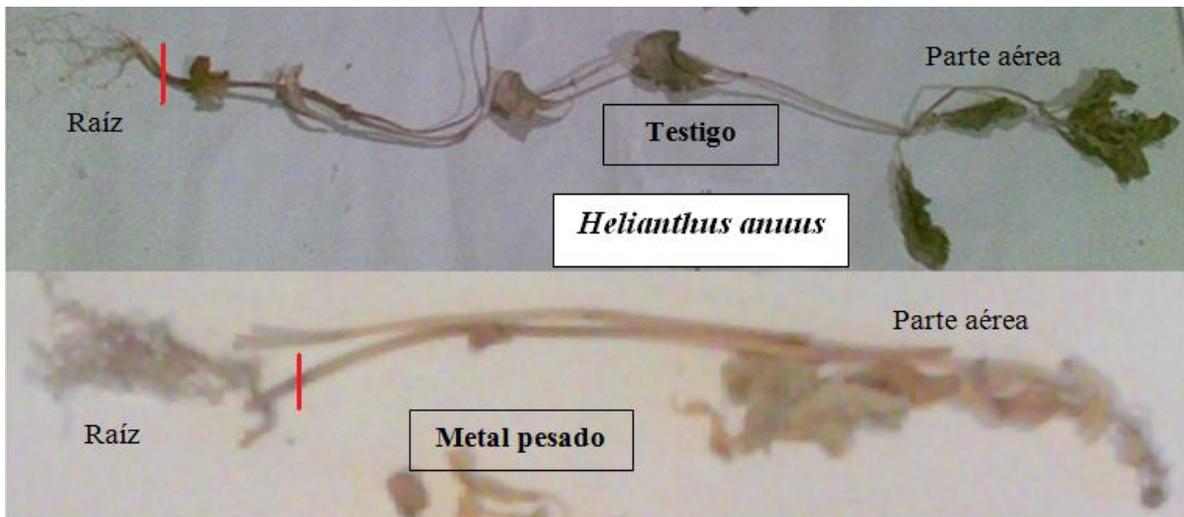


Figura 10. Raíz y parte aérea del girasol

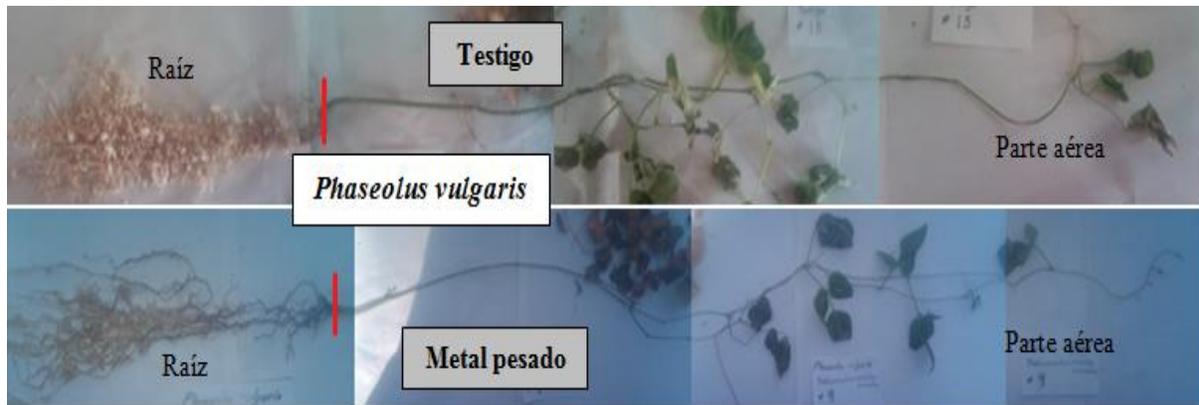


Figura 11. Raíz y parte aérea del frijol

8.2.1. Índice de tolerancia

Se obtuvo un *índice de tolerancia* igual a **210.05 %** para trigo, **169.09 %** para girasol y de **110.04 %** para frijol, lo cual indica que las tres especies son muy tolerantes a un ambiente contaminado con una mezcla de Cu, Cd, Ni, Pb y Zn; debido principalmente a la acumulación de metales pesados en la raíz, por lo que no es un mecanismo de evasión (Barazani *et al.*, 2004), Yurekli & Porgali (2006) sugieren que la acumulación de metales pesados en las raíces es el resultado de un mecanismo de tolerancia que desarrolla la planta para evitar su estrés y que lleguen al tallo y hojas.

8.3. Floración

Solamente *Helianthus annuus* y *Triticum vulgare* llegaron a esta etapa. El girasol presentó flores pequeñas de tres cm de diámetro, en promedio; cinco flores para todas las plantas testigo y tres en el caso de los tratamientos (Figura 12); el trigo desarrolló espigas, los testigos produjeron 12 mientras que las plantas tratadas con la solución de metales pesados llegaron a 18 espigas (11); el frijol no



Figura 12. Desarrollo de espiga de trigo (a) y flor de girasol (b); plantas de frijol no presentaron (c)

llegó a la etapa de floración. La exposición de las plantas en crecimiento, disminuye la producción de estructuras reproductivas (Wani *et al.*, 2008).

8.4. Biomasa seca de las plantas

Cuadro 4. Peso total (g) de la biomasa seca de cada especie, por tejido (n=15)		
<i>Helianthus annuus</i>	Testigos	Metales pesados
Flor	0.23±0.04	0.04±0.01
Hoja	1.36±0.1	0.81±0.07
Tallo	1.61±0.16	1.24±0.13
Raíz	0.06±0.004	0.07±0.004
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Testigos	Metales pesados
Hoja	3.04±0.25	2.61±0.25
Tallo	2.74±0.17	2.38±0.17
Raíz	0.74±0.07	0.92±0.1
<i>Triticum vulgare</i>	Testigos	Metales pesados
Espiga	0.95±0.1	2.49±0.15
Hoja	1.74±0.13	2.82±0.13
Tallo	0.73±0.05	1.50±0.07
Raíz	0.4±0.03	0.54±0.06

Al comparar los resultados de las tres especies, se observa que en girasol y frijol, se obtuvo mayor cantidad de *peso seco* total en los testigos que en los tratamientos con metales (Cuadro 4), similar a lo obtenido por Bouazizi *et al.*, (2010) quienes trabajaron con plantas de frijol contaminado con Cu. Los pesos totales obtenidos de las plantas de girasol son similares (en el caso de los testigos) y menores (en el caso de los tratamientos) a los reportados por Nehnevajova *et al.*, (2012) al trabajar con girasol joven. La inhibición del crecimiento en las hojas es causada por la bioacumulación de metales en estos órganos (Bouazizi *et al.*, 2010). La presencia de cantidades excesivas de elementos traza esenciales y no esenciales en el ambiente, puede causar problemas en todos los organismos; la mayoría de las plantas muestran un alto grado de sensibilidad hacia los metales pesados, por lo que se produce una reducción en su crecimiento, ya que se dañan las membranas celulares, cloroplastos, ácidos nucleicos por la producción de radicales libres, lo que afecta la biomasa del individuo (Nehnevajova *et al.*, 2012).

8.5. Concentración de Cu, Cd, Ni, Pb y Zn en *Triticum vulgare*, *Helianthus annus* y *Phaseolus vulgaris*

La concentración de metales pesados fue crítica en cada uno de los tejidos de las tres especies (Alloway, 1990), solo con excepción del Cu en los tallos de frijol (1 mgKg^{-1}) y en las flores de girasol donde no fue posible detectarlo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Concentraciones promedio de metales pesados (mgKg^{-1} de peso seco) en cada tejido de las tres especies

INDIVIDUOS		METALES PESADOS				
ESPECIE	TEJIDO	Zn	Cu	Ni	Pb	Cd
<i>Triticum vulgare</i>	ESPIGA (E)	194.20*	11.57*	45.06*	72.67*	21.93*
	HOJA (H)	302.10*	16.47*	45.30*	86.00*	33.97*
	TALLO (T)	217.53*	9.54*	56.42*	107.50*	25.96*
	RAÍZ (R)	1270.32*	311.67*	263.67*	503.33*	305.50*
	CONCENTRACIÓN TOTAL	1984.15	349.24	410.45	769.50	387.36
<i>Helianthus annus</i>	FLOR (F)	638.13*	ND	163.75*	1062.50*	136.25*
	HOJA (H)	472.48*	46.25*	138.08*	200.00*	49.08*
	TALLO (T)	365.04*	17.33*	110.44*	140.56*	57.72*
	RAÍZ (R)	1349.86*	787.14*	427.14*	764.29*	319.29*
	CONCENTRACIÓN TOTAL	2825.50	850.73	839.42	2167.34	562.34
<i>Phaseolus vulgaris</i>	HOJA (H)	176.79*	30.43*	125.50*	124.00*	49.87*
	TALLO (T)	305.06*	1.00	84.63*	84.00*	29.43*
	RAÍZ (R)	2345.10*	342.17*	406.42*	244.17*	445.00*
	CONCENTRACIÓN TOTAL	2826.97	373.60	616.55	452.17	524.30
METALES PESADOS EN PLANTA						
Concentración crítica en plantas	[1]	100 –400	20 –100	10 –100	30 –300	5 -30
	[2]	100 –900	5 –64	8 –220	ND	4 –200
ND= No detectado (*)= En el rango de concentraciones críticas (Kabata-Pendias & Pendias[1], 1984; McNichol[2], 1985)						

Al analizar los resultados, se observó que el Zn es el metal más abundante en las tres especies, mientras que el Cu en trigo y frijol, y el Cd en girasol, fueron los menos abundantes. Las mayores concentraciones de Cu, Ni, Cd y Zn se determinaron en las raíces, similar o lo observado por January *et al.*, (2008) para Cd y Ni, Nehnevajova *et al.* (2012) para Zn y Cd en plantas de girasol, y Cuypers *et al.*, (2002) para Cu y Zn en frijol.

En las figuras siguientes (13-15), se observa el comportamiento de los cinco metales pesados en las estructuras de las tres especies estudiadas.

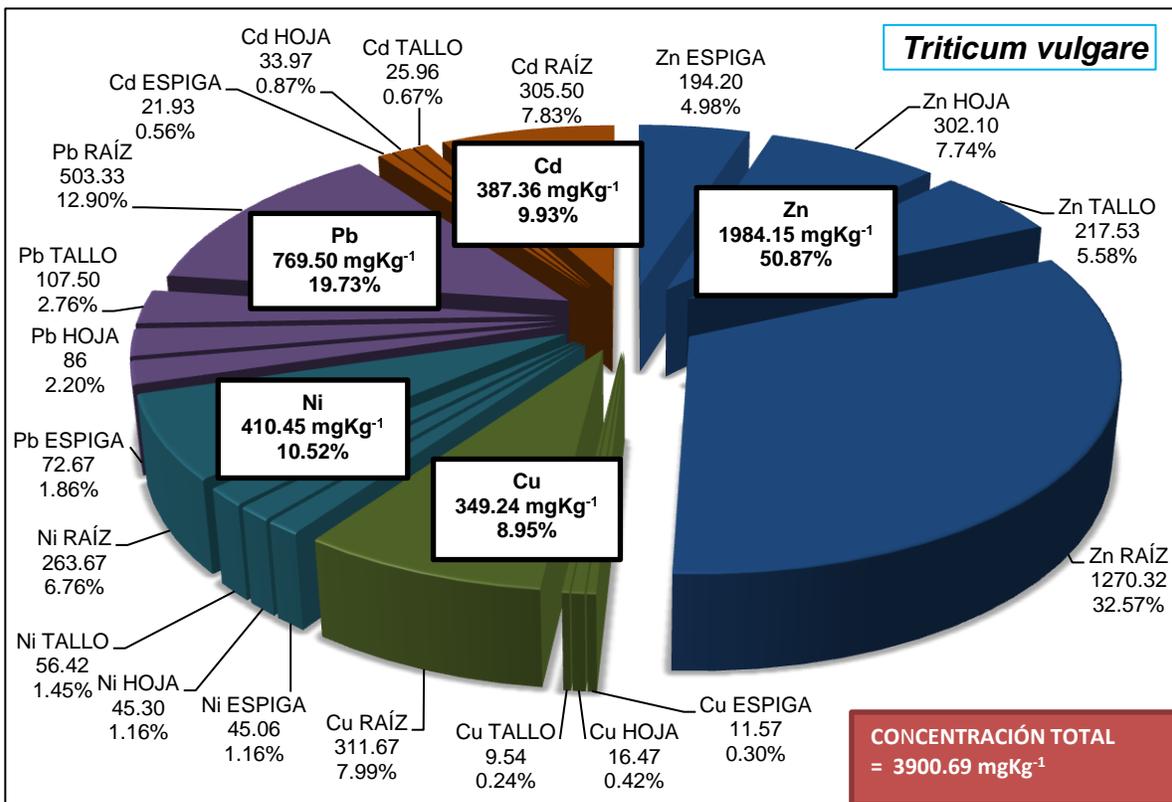


Figura 13. Concentración de metales (mgKg⁻¹), y porcentaje de éstos en trigo

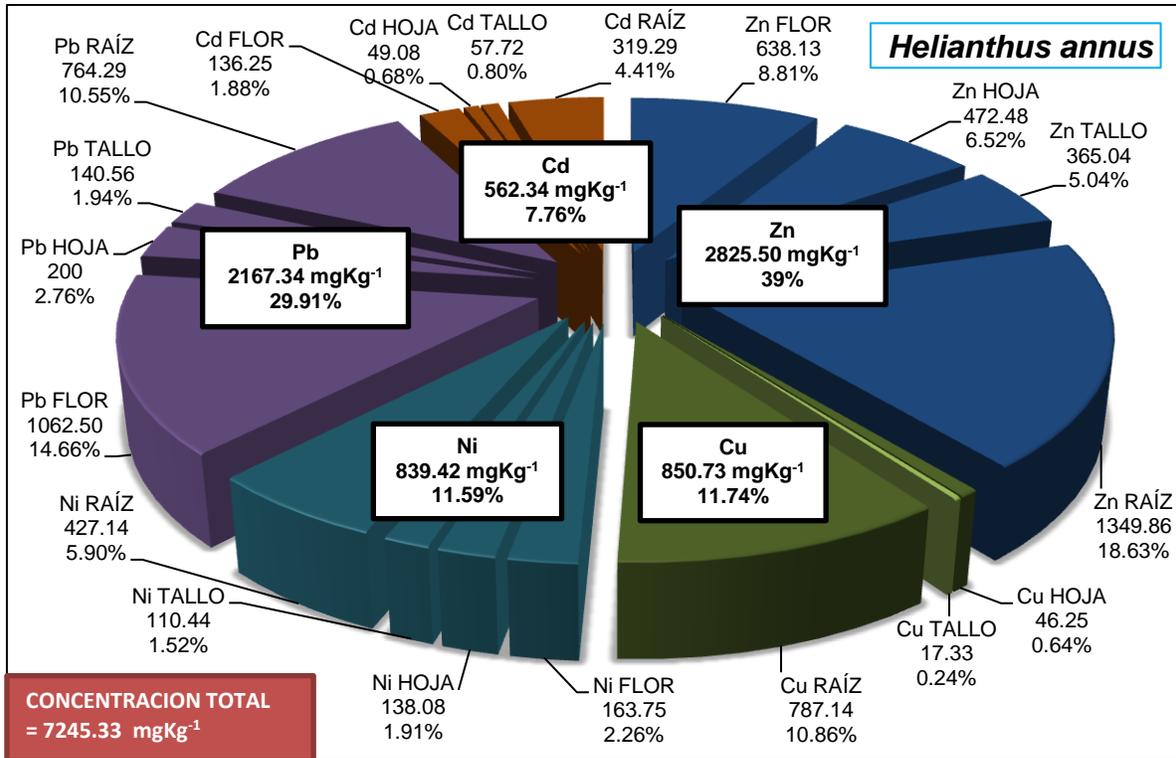


Figura 14. Concentración de metales (mgKg⁻¹), y porcentaje de éstos en girasol

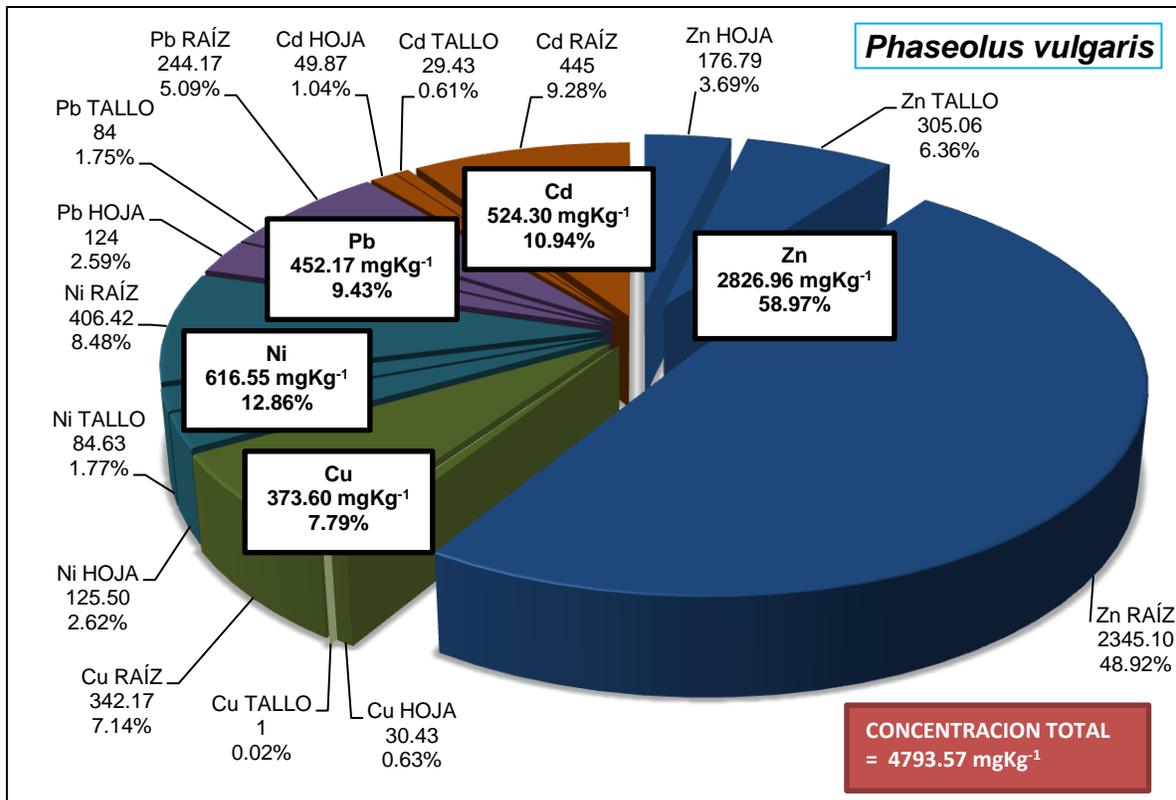


Figura 15. Concentración de metales (mgKg⁻¹), y porcentaje de éstos en frijol

Como se observa en las figuras 13-15, la concentración de metales pesados disminuyó de la raíz hacia la parte aérea, de acuerdo con Malan & Farrant, (1998); Shanker *et al.*, (2005), los metales se encuentran normalmente, en altas concentraciones en las raíces y en menor concentración en los tejidos reproductivos, debido a que los metales son secuestrados en las vacuolas de las raíces y brotes de los tejidos y la posterior disponibilidad de metales libres en el simplasto es baja.

De acuerdo con la concentración individual de Cu, Cd, Ni, Pb y Zn (mgKg^{-1} de peso seco) en cada tejido de trigo, girasol y frijol, se observan (Figuras 13, 14 y 15) las siguientes secuencias de concentración (donde R=raíz, H=hoja, T=tallo, E=espiga y F=flor):

Zn, en trigo (Figura 13) se concentró en $R[1270.32] > H[302.10] > T[217.53] > E[194.203]$, en las espigas se determinó alto contenido de Zn en comparación con lo obtenido por Jamali *et al.*, (2009) en los granos de cuatro variedades de trigo sometidas a contaminación por metales pesados; en girasol (Figura 14), se determinó en $R[1349.86] > F[638.13] > H[472.48] > T[365.04]$, los resultados en raíz y hoja, son similares a las que reporta Nehnevajova *et al.*, (2012) en girasol adulto; para frijol (Figura 15), el Zn se encontró $R[2345.10] > T[305.06] > H[176.79]$, donde la acumulación en la parte aérea, es mayor a la reportada por Cuypers *et al.*, (2002), y Meers *et al.*, (2007), y menor a la que reportan Bouazizi *et al.*, (2010) (695 ppm en hojas en expansión) al trabajar en cultivos hidropónicos contaminados con cobre y Assche *et al.*, (1988) (470 ppm en hojas primarias) en cultivos hidropónicos contaminados con Zn. La concentración más alta y más baja de Zn se determinó en raíz (equivalente a un 58.97 %), y en hoja (3.69 %) de frijol.

El **Cu** se absorbió en las plantas de trigo (Figura 13), en una secuencia $R[311.67] > H[16.47] > E[11.57] > T[9.54]$, en las espigas, el resultado fue similar a lo registrado por Jamali *et al.*, (2009) en granos de trigo; en frijol (Figura 15), el Cu se determinó en $R[342.17] > H[30.43] > T[1.00]$ y se obtuvieron resultados similares a los reportados en tallo (Cuypers *et al.*, 2002) y en hojas (Bouazizi *et al.*, 2010 y Cuypers *et al.*, 2002) en frijol creciendo en ambientes hidropónicos con una mezcla de metales pesados, y menores a los obtenidos por Meers *et al.*, (2007) quienes apreciaron un promedio de 15 mgKg^{-1} de Cu

en la parte aérea de frijol crecido en suelos contaminados con metales pesados; mientras que en girasol $R[787.14] > H[46.25] > T[17.33] > F[ND]$, además de que en esta especie se presentó la concentración más alta de Cd (en raíz) y la más baja en flor (Figura 14).

De Ni se observó $R[263.67] > T[56.42] > H[45.30] > E[45.06]$ en trigo (Figura 13), donde se la concentración en espiga, fue nueve veces mayor que la reportada por Jamali *et al.*, (2009) en granos de plantas cultivadas en suelos enmendados; en girasol, $R[427.14] > F[163.75] > H[138.08] > T[110.44]$ (Figura 14), se determinó menor proporción de Ni en raíz y tallo, que la analizada por January *et al.*, (2008), y similares a las que reportó en hojas de girasol. Las plantas de frijol (Figura 15), presentaron la siguiente secuencia $R[406.42] > H[125.50] > T[84.63]$, la parte aérea absorbió una concentración alta, comparada con los resultados de Meers *et al.*, (2007) que hallaron un máximo de 7.7 mgKg^{-1} de peso seco en frijol cultivado en condiciones de contaminación.

Al comparar las tres especies, se observó que en la raíz de girasol se acumuló la mayor concentración de Ni, mientras que la menor se presentó en las espigas del trigo.

El Cd, en trigo (Figura 13), se encontró en $R[305.50] > H[33.97] > T[25.96] > E[21.93]$, se analizaron 21.93 mgKg^{-1} en espigas, mayor a Jamali *et al.*, (2009), que obtuvo 0.71 mgKg^{-1} en granos de la misma especie; en girasol (Figura 14), la secuencia $R[319.29] > F[136.25] > T[57.72] > H[49.08]$, es diferente a la de Nehnevajova *et al.*, (2012) $R > H > T > F$ quienes obtuvieron concentraciones menores de este metal en cada tejido de plantas adultas y similar a los resultados de Zhi-xin *et al.*, (2007) que trabajaron con girasol en cultivos hidropónicos contaminados con Cd y Pb y determinaron concentraciones totales de Cd de 327.34 mgKg^{-1} , menores a las de este trabajo (562.34 mgKg^{-1}) y January *et al.*, (2008) estableció concentraciones similares en raíz y tallo y no encontró Cd en hoja. El frijol (Figura 15), acumuló el cadmio en $R [445.00] > H [49.87] > T [29.43]$, las concentraciones en la parte aérea superan a las de Meers *et al.*, (2007) quienes encontraron en promedio 2.045 mgKg^{-1} de peso seco en la parte aérea del frijol cultivado en suelos contaminados; al comparar la concentración de Cd en hoja, se encontró que el resultado es similar al obtenido por Smeets *et al.*, (2005), aunque Assche *et al.*, (1988) reportan una menor acumulación en el mismo tejido (hasta $19 \mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco), ambos trabajos en

frijol cultivado en sistemas hidropónicos contaminados con Cd. Al comparar la concentración de Cd en los tejidos de las tres especies, se determinó que la menor acumulación fue la de las espigas de trigo.

El **Pb** se concentró en trigo (Figura 13), en la secuencia R[503.33] > T[107.50] > H[86] > E[72.67], al comparar la concentración de plomo en la espiga con los resultados de Jamali *et al.*, (2009) en condiciones de contaminación de cuatro variedades de esta especie (10 mgKg⁻¹), se observó que era mayor; mientras que en frijol (Figura 15), se presentó R[244.17] > H[124.00] > T[84.00], la proporción en tallo y hoja, fue mayor a la de Meers *et al.*, (2007) quienes en la parte área de sus plantas determinaron una concentración promedio 4.8 mgKg⁻¹; y en girasol (Figura 14), el Pb se distribuyó en F[1062.50] > R[764.29] > H[200.00] > T[140.56], en una concentración total de 2167.342mgKg⁻¹, mayor a la reportada por Zhi-xin *et al.*, (2007) quienes trabajaron con girasol y obtuvieron una concentración máxima de 917.82 mgKg⁻¹ en cultivos hidropónicos contaminados con Pb y Cd.

La especie que acumuló la mayor concentración de metales pesados de la mezcla fue el girasol 7245.33 mgKg⁻¹, a diferencia del frijol 4793.57 mgKg⁻¹, y en menor proporción el trigo 3900.69 mgKg⁻¹ de peso seco.

Con base en lo anterior, se obtuvieron las siguientes secuencias de concentración de los diferentes metales en cada tejido de las tres especies (Cuadro 6);

Cuadro 6. Secuencias de concentración de metales en las tres especies

Especie	Raíz	Tallo	Hoja	Espiga/Flor
<i>T. vulgare</i>	Zn>Pb>Cu>Cd>Ni	Zn>Pb>Ni>Cd>Cu	Zn>Pb>Ni>Cd>Cu	Zn>Pb>Ni>Cd>Cu
<i>H. annuus</i>	Zn>Cu>Pb>Ni>Cd	Zn>Pb>Ni>Cd>Cu	Zn>Pb>Ni>Cd>Cu	Pb>Zn>Ni>Cd>Cu
<i>P. vulgaris</i>	Zn>Cd>Ni>Cu>Pb	Zn>Ni>Pb>Cd>Cu	Zn>Ni>Pb>Cd>Cu	

La mayor concentración de metales pesados se presentó siempre en la raíz de las tres especies, semejante a lo obtenido por Chaoui *et al.*, (1997), y Cuypers *et al.*, (2002), al analizar plantas de frijol en cultivos hidropónicos contaminados con Cd/Zn, y Cu/Zn respectivamente y Nehnevajova *et al.*, (2012) para (Zn y Cd) en girasol.

En *tallo y hoja*, el trigo y el girasol presentan la misma secuencia (Cuadro 6), donde Ni>Cd, semejante a los resultados de January *et al.*, (2008) para girasol; mientras que la secuencia del frijol es similar a la reportada por Meers *et al.*, (2007), en hoja y tallo de frijol sometido a ambientes contaminados. En las *espigas* del trigo se observó una secuencia (Cuadro 6) diferente a la reportada por Jamali *et al.*, (2009), Zn > Pb ~ Cu > Ni > Cd), en los granos de cuatro variedades de trigo cultivadas en un ambiente contaminado. *Las flores de girasol* fueron la única estructura donde la concentración de plomo fue más alta que en la raíz (Cuadro 6), diferente de lo reportado por Lin *et al.*, (2009) donde las mayores concentraciones de plomo se presentaron en raíces y hojas de girasol sometido a varios niveles de nutrientes.

La mayor concentración de todos los metales, incluso los esenciales (Zn y Cu), se presentó en las raíces y disminuyó hacia la parte aérea, solo con la excepción del plomo (Figuras 13- 15), ya que los elementos que se consideran esenciales (Zn y Cu) para el crecimiento de las plantas presentan una tendencia a la movilidad hacia la parte aérea y los metales no esenciales y/o tóxicos se acumulan más en la raíz (Streit & Stumm, 1993) que en la parte aérea, debido a que estos son secuestrados en las vacuolas de las raíces, principalmente (Shanker *et al.*, 2005; Kranner & Colville, 2010). El transporte de metales de las raíces a los tallos, incluye una larga distancia de traslocación en el xilema y su almacén en las vacuolas de las células de las hojas (Yang *et al.*, 1997). Los procesos de absorción de metales y su acumulación en las plantas, dependen de la concentración de metal disponible en el sustrato, secuencia de solubilidad y la especie de planta. Numerosos estudios han reportado que con respecto a la compartimentalización de metales pesados en las partes aéreas de los árboles ocurre de manera dominante en el tejido que crece activamente (Leung *et al.*, 2007).

La acumulación y distribución de metales en el tejido de la planta es un aspecto importante para evaluar su papel como fitorremediadora, ya que el proceso de fitorremediación depende de una adecuada cosecha y de que la planta posea habilidad para hiperacumular cantidades anormalmente grandes de metales en sus tallos (Gupta & Sinha, 2007).

La movilidad de los metales pesados del sustrato contaminado en las raíces de las plantas y la capacidad para la traslocación de los metales desde la raíz hasta la parte aérea, se evalúan de manera general por medio del factor de bioconcentración y el factor de traslocación (Fellet *et al.*, 2007).

8.6. Análisis estadístico de la concentración de cada metal, por tratamientos

Cuadro 7. Prueba de múltiples rangos

Contraste	Zn	Ni	Pb	Cd	Cu
Frijol mp - Frijol tes	*	*		*	*
Frijol mp - Girasol mp		*	*		*
Frijol mp - Girasol tes	*	*	*	*	*
Frijol mp - Trigo mp		*	*	*	
Frijol mp - Trigo tes		*	*	*	*
Frijol tes - Girasol mp	*	*	*	*	*
Frijol tes - Girasol tes			*		*
Frijol tes - Trigo mp	*	*	*	*	*
Frijol tes - Trigo tes	*		*		*
Girasol mp - Girasol tes	*	*	*	*	*
Girasol mp - Trigo mp		*	*	*	*
Girasol mp - Trigo tes		*	*	*	*
Girasol tes - Trigo mp		*	*	*	*
Girasol tes - Trigo tes	*		*		*
Trigo mp - Trigo tes	*	*	*	*	*

Los 14 pares de contraste muestran diferencias estadísticamente significativas (*), distintas para cada metal (Cuadro 7), de acuerdo con las pruebas de múltiples rangos (con un nivel del 95.0% de confianza), para Zn, Ni, Pb, Cd y Cu, por ambos tratamientos de cada especie.

8.7. Factor de Traslocación

Cuadro 8. Factor de traslocación (TF) de los metales en girasol, trigo y frijol

Factor de traslocación (Fellet <i>et al.</i> , 2007)					
Especies estudiadas	Zn	Cu	Ni	Pb	Cd
<i>Helianthus annuus</i>	0.270	0.022	0.259	0.184	0.181
<i>Triticum vulgare</i>	0.171	0.031	0.214	0.214	0.085
<i>Phaseolus vulgaris</i>	0.130	0.003	0.208	0.344	0.066

Al comparar los resultados obtenidos en las tres especies, se observa que el TF para Ni y Cd obtenidos en girasol, y compararlos con los obtenidos por January *et al.*, (2008) al trabajar cultivos hidropónicos de la misma especie, contaminados con metales pesados, se observó que es menor para Ni y similar para Cd.

Cuando el valor del factor de traslocación es menor de 0.5 indica que la planta es tolerante, cuando es menor a 1, acumuladora y mayor a 1 hiperacumuladora. *Triticum vulgare*, *Helianthus annuus* y *Phaseolus vulgaris* son capaces de traslocar Zn, Ni, Cd, Cu y Pb a sus partes aéreas, no como plantas hiperacumuladoras pero sí como tolerantes (Cuadro 8), y traslocan lo suficiente, ya que acumularon concentraciones críticas de cada metal (Cuadro 3); aunque Zhi-xin *et al.*, (2007) reporta TF de Cd y Pb en girasol y alfalfa cultivadas en hidroponía, mayores a los valores de girasol y frijol respectivamente, obtenidos en esta investigación. Estos resultados están relacionados con los altos índices de tolerancia que presentaron las tres especies (arriba de 100% e incluso más del 200% para el trigo); al presentarse un bajo factor de traslocación se dice que la planta tiene un alto potencial de fitoestabilización (Yoon, *et al.*, 2006), ya que el enriquecimiento ocurre, cuando un contaminante es tomado por la planta y no es degradado rápidamente, resultando en una acumulación en la planta. El proceso de fitoextracción generalmente requiere la traslocación de metales pesados a la parte cosechable de la planta, por ejemplo, los tallos o las hojas, mientras que la tolerancia se restringe al suelo- raíz y a veces acumula menos biomasa mientras que las hiperacumuladoras activamente toman y traslocan metales a la parte aérea de la biomasa (Yoon, *et al* 2006); estos valores pueden describir el movimiento y distribución de los metales pesados en las plantas (Zhi-xin *et al.*, 2007).

8.8. Total de metales extraídos por *Helianthus annuus*, *Triticum vulgare* y *Phaseolus vulgaris*

Cuadro 9. Cantidad de metal extraído ($\mu\text{g/planta}$) Zhang *et al.*, (2010)

ESPECIE	Zn	Cu	Ni	Pb	Cd	Suma de metales
Girasol	955.37	114.06	285.25	432.29	139.13	1926.10
Trigo	2347.75	257.85	466.96	856.51	354.31	4283.37
Frijol	3344.97	396.60	902.89	748.19	609.60	6002.26

Phaseolus vulgaris acumuló en su cuerpo la mayor cantidad de Zn, Cu, Ni y Cd, además de que fue la especie que absorbió mejor la mezcla metálica; la mayor cantidad de Pb la concentró *Triticum vulgare*, que fue la segunda especie que absorbió mejor la mezcla, y, en *Helianthus annuus*, se determinaron las menores concentraciones (Cuadro 9).

IX. CONCLUSIONES

Trigo, frijol y girasol, presentan en general, un buen desarrollo en altura y supervivencia en ambientes contaminados con Cu, Cd, Ni, Pb y Zn; las tres especies toleran concentraciones críticas de estos metales y los traslocan a las partes aéreas, por lo que pueden ser especies potencialmente fitorremediadoras en suelos contaminados con metales pesados.

El girasol y el trigo acumulan metales pesados en raíz, tallo, así como en sus estructuras reproductivas, por lo que no es recomendable consumir sus semillas, pues representan un riesgo para la salud.

X. LITERATURA CITADA

Alloway, B.J. (1990). Heavy metals in soils. Jhon Wiley & Sons. Reino Unido. 339 pp.

Álvarez, E., Fernández M., M.L., Vaamonde, C., Fernández S., M.J. (2003). Heavy metals in the dump of an abandoned mine in Galicia (NW Spain) and in the spontaneously occurring vegetation. *The Science of the Environment*. 313, 185-197.

Arienzo, M., Adamo, P., Cozzolino, V. (2004). The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. *The Science of the Total Environment*. 319, 13-25.

Assche, F.V., Cardinaels, C., Clijsters, H. (1988). Induction of Enzyme Capacity in Plants as a Result of Heavy Metal Toxicity: Dose-Response Relations in *Phaseolus vulgaris* L., Treated with Zinc and Cadmium. *Environmental Pollution*. 52, 103-115.

Battaglia, A., Calace, N., Nardi, E., Petronio, B.M., Pietroletti, M. (2007). Reduction of Pb and Zn bioavailable forms in metal polluted soils due to paper mill sludge addition. Effects on Pb and Zn transferability to barley. *Bioresource Technology*. 98, 2993–2999.

Belderok, B., Hans, M., Dingena A., D. (2000). Bread Making Quality of Wheat. Springer. ISBN 0792363833. In SAGARPA.

Bermúdez, G. M.A., Jasan, R., Plá, R., Pignata, M.L. (2011). Heavy metal and trace element concentrations in wheat grains: Assessment of potential noncarcinogenic health hazard through their consumption. *Journal of Hazardous Materials*. 193, 264– 271.

Bonfranceschi, B. A., Flocco, C.G., Donati, E.R. (2009). Study of the heavy metal phytoextraction capacity of two forage species growing in an hydroponic environment. *Journal of Hazardous Materials*. 165, 366–371.

Bose, S., Bhattacharyya, A.K. (2008). Heavy metal accumulation in wheat plant grown in soil amended with industrial sludge. *Chemosphere*. 70, 1264–1272.

Bouazizi, H., Jouili, H., Geitmann, A., Ferjani, E.E. (2010). Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73, 1304–1308.

Bowen, H.J.M. (1979). *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press London. In Alloway, (1990).

Callejas C., M. (2009). Evaluación de *Cynodon dactylon* (L) Pers y *Senna tomentosa* Batka como plantas extractoras de Zn y Cd. Tesis de Licenciatura. FES-Zaragoza, UNAM.

Carpena, R.O., Bernal, M.P. (2007). Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *ECOSISTEMAS*. 16 (2), 1-3.

Castillo P., R., Sánchez S., E., Ortiz H., Ma. L. (2003). Análisis comparativo de la acumulación de metales pesados utilizando plantas del genero *Pelargonium sp*. Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 1 pp.

Chakravarty, B., Srivastava, S. (1992). Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in *Helianthus annuus*. Elsevier Science Publisher B.V. *Mutation Research*. 283, 287-294.

Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J.M. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol*. 8, 279-284.

Chaoui, A., Ghorbal, M.H., Ferjani, E.E. (1997). Effects of cadmium-zinc interactions on hydroponically grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science* 126, 21–28.

Cicerone, D.S., Sánchez, P., Paula, R., S. (2006). *Contaminación y medio ambiente*. Eudeba. Buenos Aires, Argentina. 210 pp.

Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria (COVECA). (2011). Monografía del frijol. Gobierno del Estado de Veracruz. 25 pp.

Cottenie, A., Dhaese, A., Camerlynck, R. (1976). Plant quality response to uptake of polluting elements. Qual. Plant.-Pl. Fds. Hum. Nutr., XXVI 1/3, 293-319. In Assche *et al.*, (1988).

Csuros, M., Csuros, C. (2002). *Environmental sampling and analysis for metals*. Lewis Publisher. 372 pp.

Cuypers, A., Vangronsveld, J., Clijsters, H. (2002). Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* Copper and Zinc Phytotoxicity: a comparison. Journal of Plant Physiol. 159, 869–876.

Dahnani M., H., Van Oort, F., Balabane, M. (2001). Metal extraction by *Arabidopsis halleri* grown on an unpolluted soil amended with various metal-bearing solids: a pot experiment. Environmental Pollution. Volume 114, 77-84.

Dahnani M., H., Van Oort, F., Gélie, B., Balabane, M. (2000). Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. Environmental Pollution. 109, 231-238.

Del Río, M., Font, R., Almela, C., Vélez, D., Montoro, R., De Haro Bailón, A. (2002). Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. Journal of Biotechnology. 98, 125–137.

Dendy, D., Dobraszczyk, B. (2001) *Cereals and Cereal Products: Chemistry and Technology*. Kluwer Academic Plenum Publishers, New York. ISBN 8420010227. In SAGARPA.

Fellet, G., Marchiol, L., Perosa, D., Zerbi, G. (2007). The application of phytoremediation technology in a soil contaminated by pyrite cinders. *Ecological Engineering*. 1192, 8 pp.

Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas (FENALCE). (2012). Copyright 1999-2009. Disponible en Internet en: http://www.fenalce.org/pagina.php?p_a=51#.

Forero, D. G. (2000). Almacenamiento de Granos. UNAD, Facultad de Ciencias Agrarias, Bogotá. In SAGARPA.

Gardea T., J.L., Peralta V., J.R., Montes, M., G., De la Rosa, G., Corral D., B. (2004). Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: Impact on plant growth and uptake of nutritional elements. *Bioresource Technology*. 92, 229-235.

Gocht, W.R., H. Zantop y R.G. Eggert. (1988). *International mineral economics*. Springer-Verlag, Berlin. 271 pp.

Gupta, A.K., Dwivedi, S., Sinha, S., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Singh, S.N. (2007). Metal accumulation and growth performance of *Phaseolus vulgaris* grown in fly ash amended soil. *ELSEVIER. Bioresource Technology*. 98, 3404–3407.

Gutiérrez E., L. R., Melgoza C., A., Alarcón H., M.T., Ortega G., J.A., Prado T., D.E., Cedillo A., M.E. (2011). Germinación del girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) en presencia de diferentes concentraciones de metales. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Alga*. 12(1), 49-56.

Gutiérrez, M. (2003). Minería Unión de Grupos Ambientalistas (UGAM). Disponible en Internet en: <http://www.union.org.mx/guia/actividadesyagravios/mineria.htm>. In Volke *et al.*, (2005).

Gutiérrez, M. E., Moreno, M. (1997). Los residuos en la minería mexicana. INE, México. Disponible en Internet en: http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/35/los_residuos.html?id_pub=35. In Volke *et al.*, (2005).

Heinrichs, H., Schultz_Dobrick, B., Wedepohl, K.J. (1980). *Geochim. Cosmochim. Acta* 44, 1519-1532.

Illera, V., Walter, I., Cala, V. (2001). Niveles de metales pesados en *Thymuszygis* desarrollado en suelos enmendados con residuos orgánicos urbanos. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 17 (4), 179-186.

Instituto Nacional de Ecología (INE). (1998). Programa para la minimización y el manejo de los residuos industriales peligrosos. Gaceta 39. INE. México.

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). (2009). Manual del cultivo de Girasol en Venezuela. Araure, Venezuela. INIA. (Serie B N° 20). 48 pp.

Jamali, M. K., Kazi, T. G., Arain, M. B., Afridi, H. I., Jalbani, N., Kandhro, G. A., Shah, A. Q., Baig, J. A. (2009). Heavy metal accumulation in different varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in soil amended with domestic sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials.* 164, 1386–1391.

January, M.C., Cutright, T.J., Keulen, H., Wei, R. (2008). Hydroponic phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: Can *Helianthus annuus* hyperaccumulate multiple heavy metals?. *Chemosphere.* 70, 531–537.

Jiménez S., I. (2004). Evaluación de la Concentración de Metales Pesados en Suelo y Hortalizas de la Zona Chinampera de Xochimilco, D. F. Tesis de Licenciatura, FES-Zaragoza, UNAM.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1984). Trace Elements in Soils and Plants. 2nd ed. CRC Press. Boca Ratón, Florida. In Alloway, (1990).

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1992). Trace elements in soils and plants. 2nd ed. CRC Press. Boca Ratón, Florida. 365pp.

Kent, N. L. (1975). Technology of Cereals with special reference to wheat. Pergamon Press Ltd, Oxford. ISBN 0080181775.

Kent, N. L. (1983) Technology of Cereals: An introduction for students of food science and agriculture. Pergamon Press Ltd, Oxford. ISBN 8420006084.

Kranner, I., Colville, L. (2010). Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. ELSEVIER. EEB 2180, 1-13.

Lepp, N.W. (ed.) (1981). The effect of heavy metals on plants (2 Vols). London. Applied Science Publishers. In Assche *et al.*, (1988).

Leung, H.M., Ye, Z.H., Wong, M.H. (2007). Survival strategies of plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi on toxic mine tailings. Chemosphere 66: 905–915.

Lin, Ch., Liu, J., Liu, L., Zhu, T., Sheng, L., Wang, D. (2009). Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. Environmental and Experimental Botany. 65, 410–416.

Madejón P., Murillo J.M., Marañón T., Cabrera F., López R. (2002). Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcóllar mine spill (SW Spain). The Science of the Total Environment. 290, 105-120.

Madejón P., Murillo J.M., Marañón T., Cabrera F., Soriano M.A. (2003). Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznalcóllar mine spill. *The Science of the Total Environment*. 307, 239-257.

Madrid, F., Liphadzi, M., Kirkham, M.B. (2003). Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *J. Hydrol.* 272, 107–119. In January *et al.*, (2008).

Malan, H.L., Farrant, J.M. (1998). Effects of the metal pollutants cadmium and nickel on soybean seed development. *Seed Sci. Res.* 8, 445–453. In Kranner & Colville, (2010).

Marchiol L., Assolari, S., Sacco, P., Zerbi, G. (2004). Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution*. 1 pp.

Mc Nichols, R.D., Beckett, P.H.T. (1985). *Plant and Soil*. 85, 107-129. In Alloway, (1990).

Meers, E., Samson, R., Tack, F.M.G., Ruttens, A., Vandegheuchte, M., Vangronsveld, J., Verloo, M.G. (2007). Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by *Phaseolus vulgaris*. *Environmental and Experimental Botany*. 60, 385–396.

Miranda, F., Badillo, A. (1990). Estrategias de producción de semillas de girasol. Memorias. Análisis de la tecnología sobre el cultivo de girasol en el estado Barinas. 130-131 pp. In INIA, (2009).

Narr, Z., Li, J., Zhang, J., Cheng, G. (2002). Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. *The Science of the Total Environment*. 285, 187 -195.

Navarro-Aviñó, J.P., Aguilar Alonso, I., López-Moya, J.R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*. 16 (2), 10-25.

Nehnevajova, E., Lyubenova, L., Herzig, R., Schröder, P., Schwitzguébel, J.P., Schmülling, T. (2012). Metal accumulation and response of antioxidant enzymes in seedlings and adult sunflower mutants with improved metal removal traits on a metal contaminated soil. *Environmental and Experimental Botany*. 76, 39– 48.

Núñez L., R.A., Meas V., Y., Ortega B., R.J., Olgúin, E. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *CIENCIA*. JUL-SEP, 69-82 pp.

Otte, M.L., Haarsma, M.S., Broekman, R.A., Rozema, J. (1993). Relation between heavy metal concentration in salt marsh plant and soil. *Environmental Pollution*. 82, 13-22.

Pais, I., Benton, J. (Jr). (1997). *The handbook of trace elements*. St. Lucie Press. CRC. Press LLC. Florida USA.

Peralta-Videa, J.R., de la Rosaa, G., González, J.H., Gardea-Torresdey, J.L. (2004). Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *ELSEVIER. Advances in Environmental Research*. 8, 679–685.

Radojevic, M., Bashkin, V. N. (1999). *Practical environmental analysis*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK. 466 pp.

Robinson, B.H., Brooks, R.R., Howes, A.W., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H. (1997). The Potential Of The High Hyperaccumulator *Bekhelyacoddii* For Phytoremediation And Phytomining. Available in *Journal of Geochemical Exploration*. 60, 115-126.

Roosens, N., Verbruggen, N., Meerts, P., Ximenez E., P., Smith, J. (2003). Natural variation in cadmium tolerance and its relationship to metal hyperaccumulation for seven populations of *Thalaspis caerulescens* from western Europe. *Plant Cell Environ.* 10, 1657–1672. In January *et al.*, (2008).

Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643-68.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). El cultivo del trigo. Gobierno del Estado de Baja California. 10 pp.

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2004). Información proporcionada por la Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas. INE, México. In Volke *et al.*, (2005).

Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza T., H., Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environ. Int.* 31, 739–753. In Kranner & Colville, (2010).

Smeets, K., Cuypers, A., Lambrechts, A., Semane, B., Hoet, P., Laere, A., Vangronsveld, A. (2005). Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. *Plant Physiology and Biochemistry.* 43, 437–444.

Stanley, E., Manahan. (2007). Introducción a la Química Ambiental. Reverté Ediciones, S.A. de C.V. España. 725pp.

Stoker, H. S., Seager, S. L. (1981). Química ambiental: Contaminación del aire y del agua. BLUME. Barcelona, España. 320pp.

Streit B. y Stumm W. (1993). Chemical properties of metals and the process of bioaccumulation in terrestrial plants. En: Plants as biomonitors, indicators for heavy metals in the terrestrial environment. (B. Markert, Ed.). Weinheim, VCH. 3162 pp. In Illera *et al.*, (2001).

Suchkova, N., Darakas, E., Ganoulis, J. (2010). Phytoremediation as a prospective method for rehabilitation of areas contaminated by long term sewage sludge storage: A Ukrainian–Greek case study. *Ecological Engineering*. 36, 373–378.

Talavera O., A. (2003). Fitorremediación de suelo contaminado con Cu, Fe y Zn en el Estado de Hidalgo. Tesis de Licenciatura, FES-Zaragoza, UNAM.

Tripathi R.D., Vajpayee P., Singh N., Rai U.N., Kumar A., Ali M.B., Kumar B., Yunus M. (2004). Efficacy of various amendments for amelioration of fly-ash toxicity: growth performance and metal composition of *Cassia siamea* Lamk. *Chemosphere* 5: 1581–1588

Upadhyay, R.K., Panda, S.K. (2009). Copper-induced growth inhibition, oxidative stress and ultra structural alterations in freshly grown water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *C R Biol*. 332, 623–632.

Volke S., T., Velasco T., J. A, De la Rosa P., D. A. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología (INE- SEMARNAT). México, D.F. 363pp.

Wani, P.A., Khan, M.S., Zaidi, A. (2008). Effects of heavy metal toxicity on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake in pea grown on metal amended soil. *B. Environ. Contam. Toxicol*. 81, 152–158.

Welch R.M. (1995). Micronutrient nutrition of plants. *Crit. Rev. Plant Sci*.14, 4982. In Illera *et al.*, (2001).

Wilkins D.A. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytol.* 80, 623-633.

Yoon, J., Xinde, C., Qixing, Z., Ma Lena, Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* 368: 456–464.

Yurekli, F., Porgali, Z.B. (2006). The effects of excessive exposure to copper in bean plants. *Acta Biol. Cracov. Bot.* 48 (2), 7–13.

Zapata C., A., Galván V., Ma. De los Á. (2004). Manual básico de absorción atómica para el manejo del equipo Spectraa 200 marca Varian. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza- UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. México. 52pp.

Zhang, X., Xia, H., Li, Z., Zhuang, P., Gao, B. (2010). Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresource Technology.* 101, 2063–2066.

Zhi-xin, N., Li-na, S., Tie-heng, S., Yu-shuang. L., Hong, W. (2007). Evaluation of phytoextracting cadmium and lead by sunflower, ricinus, alfalfa and mustard in hydroponic culture. *Journal of Environmental Sciences.* 19, 961–967.